PRAKTIKUM

der

klinischen chemisch-mikroskopischen

und

bakteriologischen

Untersuchungsmethoden

von

Dr. Klopstock und Dr. Kowarsky.

URBAN & SCHWARZENBERG
BERLIN-WIEN

E. W. Hanlon
Berlin Sept. 06

PRAKTIKUM

DER KLINISCHEN

CHEMISCH-MIKROSKOPISCHEN UND BAKTERIOLOGISCHEN

UNTERSUCHUNGSMETHODEN.

VON

DR. M. KLOPSTOCK UND DR. A. KOWARSKY

IN BERLIN.

MIT 70 ABBILDUNGEN.

URBAN & SCHWARZENBERG

BERLIN — N., FRIEDRICHSTRASSE 105b

WIEN — I., MAXIMILIANSTRASSE 4

1904.

Vorwort.

Das vorliegende kleine Buch verdankt seine Entstehung dem Wunsche der Verfasser, den Teilnehmern der von ihnen im Institut für medizinische Diagnostik in Berlin abgehaltenen Kurse über klinische Chemie, Mikroskopie und Bakteriologie ein kurzgefaßtes, schnell orientierendes Buch in die Hand zu geben. Dasselbe soll keineswegs große und ausführliche Lehrbücher ersetzen, sondern den Arbeitenden in knapper Form eine Übersicht über das Arbeitsgebiet geben. Da das Buch in erster Reihe für den praktischen Arzt bestimmt ist, durften wir bei der Schilderung eine elementare chemische und bakteriologische Vorbildung voraussetzen. Aus dem gleichen Grunde ist bei der Auswahl der Untersuchungsmethoden ganz besonders dem Bedürfnis der alltäglichen Praxis Rechnung getragen. Wo es nur möglich war, sind die einfachsten und am schnellsten ausführbaren Methoden gewählt worden.

Es wird für uns die größte Genugtuung sein, wenn dieses kleine Buch auch in weiteren ärztlichen Kreisen Anklang finden sollte.

Die Verfasser.

Inhaltsverzeichnis.

I. KAPITEL.

Bakteriologische Untersuchung der Sekrete und Beläge des Mundes und Rachens.

Bei der bakteriologischen Untersuchung pathologischer Produkte des Mundes und Rachens handelt es sich vor allem um den Nachweis der Diphtheriebazillen. Erst in zweiter Linie stehen Staphylo-, Strepto-, Pneumokokken, Influenzabazillen, Diplobazillus Friedländer, die sowohl als selbständige Entzündungserreger bei Angina als auch als mischinfizierende Bakterien bei Diphtherie auftreten. Schließlich kommt noch der Soorpilz, Oidium albicans, in Betracht. In den Belägen der Tonsillen, welche durch den Soorpilz hervorgerufen werden, finden sich nicht selten gleichzeitig Diphtheriebazillen.

Gewinnung des Untersuchungsmaterials.

Zur Entnahme von Belägen und Sekreten des Mundes und Rachens bedient man sich am besten kleiner Apparate, wie sie von einer Reihe von Untersuchungsstationen den Ärzten zur Verfügung gestellt werden. Dieselben bestehen aus einem starkwandigen, mit einem Korken verschlossenen Reagenzglase, welches einen Zinkdraht enthält, der mit dem einen Ende in dem Korken steckt und an dem anderen Ende mit einem Bäuschchen unentfetteter Watte versehen ist. Das Reagenzglas samt Inhalt wird $^1/_2$ Stunde im Lufttrockenschrank bei 160° sterilisiert und kommt zum Versand in ein passendes Holzkästchen, das außerdem eine Gebrauchsanweisung und einen vom Arzt auszufüllenden Begleitschein

enthält, der über Dauer der Erkrankung, Herkunft des Untersuchungsmaterials etc. Auskunft gibt.

Zur Entnahme des Untersuchungsmaterials fährt man mit dem Wattebausch kräftig über den verdächtigen Belag fort und bringt dann die Tupfersonde sofort in das Reagenzglas zurück. Ein Antiseptikum (Gurgelung oder Pinselung) darf kurz vor der Entnahme des Untersuchungsmaterials nicht angewandt werden, da die Diphtheriebazillen schon durch schwachwirkende Desinfizientien in ihrer Entwicklungsfähigkeit auf künstlichen Nährböden beeinträchtigt werden.

Morphologische und tinktorielle Eigenschaften der Diphtheriebazillen.

Die Diphtheriebazillen sind unbewegliche Stäbchen, welche in ihrem morphologischen Verhalten Differenzen aufweisen, die von der Art des Nährbodens, dem Alter der Kultur, der Temperatur, bei welcher sie gezüchtet sind, etc. abhängen. Sie variieren nicht unerheblich in ihrer Länge, so daß man kurze, mittlere und lange Formen unterscheiden kann. Nach 6—10stündigem Wachstum auf erstarrtem reinen Serum oder *Löffler*schem Blutserum finden sich vorwiegend lange, teils grade teils leicht gebogene, keulenförmige oder an beiden Enden zugespitzte Bakterien. In älteren Kulturen sieht man spindel-, hantel-, lanzettförmige Stäbchen auftreten. Die langen Formen lassen in ihrem Protoplasma kleine, stark lichtbrechende Punkte erkennen. Charakteristisch ist die Gruppierung der Diphtheriebazillen in den Kolonien zu größeren und kleineren losen Haufen, in welchen die einzelnen Individuen vielfach gekreuzt übereinander liegen. Besonders in Klatschpräparaten von jungen Serumkulturen und in Membranen, in welchen die Diphtheriebazillen in großer Anzahl vorhanden sind, bieten sie ein Bild dar, das man sich etwa vergegenwärtigen kann, wenn man die gespreizten Finger der einen Hand in verschiedenen Kombinationen über oder neben die der anderen legt *(Neisser)*.

Die Diphtheriebazillen färben sich leicht mit verdünnten Anilinfarbstoffen. Besonders geeignet sind verdünnte *Ziehl*sche

Lösung (1 : 9) und *Löfflers* alkalisches Methylenblau; mit ersterem färbt man 1 Minute, mit letzterem 2 Minuten, ohne das Präparat zu erwärmen. Nach der *Gram*schen Methode verhalten sich die Diphtheriebazillen positiv. Die aus jungen Kulturen stammenden Stäbchen färben sich gleichmäßig, in den aus älteren Kulturen hergestellten Präparaten zeigen sie gewöhnlich eine oder mehrere ungefärbte Lücken. Die mit *Löffler*schem Methylenblau tingierten Bazillen lassen in der Regel an einem oder beiden Enden gelegene, intensiver als der übrige Teil des Protoplasmas gefärbte Körner erkennen. Diese Polkörner (*Babes-Ernst*sche Körperchen) treten besonders deutlich bei Anwendung der *Roux*schen oder *Neisser*schen Färbung hervor (Fig. 1). Die *Roux*sche Farbflüssigkeit (cf. Seite 271) wird hergestellt, indem man einen Teil Dahliaviolettlösung mit zwei Teilen Methylgrünlösung mischt. Die Mischung ist längere Zeit haltbar und gibt keine Niederschläge. Man färbt damit 2 Minuten, ohne zu erwärmen. Die *Neisser*sche Methode ist eine Doppelfärbung (Farbrezepte cf. Seite 272): Färbung mit essigsaurem Methylenblau 20 Sekunden, Spülung mit destilliertem Wasser, Nachfärbung mit Bismarckbraun 10 Sekunden, Wasserspülung etc. (Fig. 2). Alsdann erscheinen die Bazillen braun, die ovalen Polkörner dunkelblau. In der Regel zeigt jedes Stäbchen 2 Körner, an jedem Ende eins, einzelne besitzen nur an einem Ende ein Körnchen, nicht selten kommt aber auch noch ein drittes, in der Mitte liegendes vor. Häufig finden sich 2 stumpfwinklig nebeneinander liegende Bazillen mit zusammen 3 oder 4 Körnchen. Die Färbung nach dieser Methode gelingt nur mit Sicherheit, wenn die Präparate Serumkulturen entstammen, welche mindestens 9 Stunden alt und nicht älter als 20—24 Stunden und bei einer Temperatur zwischen 34 und 37° gewachsen sind. Ferner müssen die Präparate in sehr dünner Schicht ausgestrichen sein. Es ist notwendig, jedesmal nach Herstellung frischer Lösungen zur *Neisser*-Färbung die Zeitdauer der Färbung festzustellen, da dieselbe innerhalb geringer Grenzen schwankt.

Die *Neisser*sche Färbung ist von differentielldiagnostischer Bedeutung gegenüber den diphtherieähnlichen Stäbchen.

Kulturelle Eigenschaften.

Zur Züchtung der Diphtheriebazillen ist eine Temperatur von mindestens 20° erforderlich, ihr Temperatur-Optimum liegt zwischen 33 und 37°. Sie gedeihen auf allen gebräuchlichen Nährböden, wenn dieselben schwache, aber deutliche alkalische Reaktion zeigen. Für diagnostische Zwecke sind in Gebrauch Bouillon, Glyzerinagar (5—7%) und vor allem Blutserum.

Bouillon wird nach 1 bis 2tägigem Wachstum entweder gleichmäßig flockig getrübt, oder es entwickelt sich ein feinkörniger Niederschlag, der an den Wänden und am Boden des Glases haftet. Nicht selten kommt es auf der Oberfläche der Bouillon zur Bildung eines dünnen, körnigen, leicht zerstörbaren Häutchens. Die ursprünglich schwach alkalische Bouillon wird nach 2 × 24 Stunden infolge des Wachstums der Diphtheriebazillen in eine saure Reaktion übergeführt. Auf Agar findet nur kümmerliches Wachstum statt, besser ist die Entwicklung auf Glyzerinagar. Die oberflächlichen Kolonien erscheinen durchsichtig, grauweiß; bei Betrachtung mit schwacher Vergrößerung zeigen sie eine eigentümlich gekörnte Oberfläche und einen unregelmäßigen, zarten Rand.

Am üppigsten und schnellsten ist das Wachstum der Diphtheriebazillen auf Blutserum. Zu ihrer Kultivierung aus Membranen ist dasselbe auch deswegen ganz besonders geeignet, weil es eine elektive Wirkung gegenüber den anderen Mundbakterien besitzt; auf Blutserum entwickeln sich zuerst die Diphtheriebazillen und erst später die anderen, gleichzeitig zur Aussaat gekommenen Mikroorganismen.

Man bedient sich entweder reinen Blutserums, das von Rindern, Hammeln oder Pferden stammen kann, oder des sogenannten *Löffler*schen Serums, welches aus einem Gemisch von 3 Teilen Kälber- oder Hammelserum mit einem Teil 1% Traubenzuckerbouillon besteht (cf Seite 287 u. 288).

Auf erstarrtem Serum haben sich die Diphtheriebazillen oft schon nach 6 Stunden zu sehr kleinen, durchsichtigen Kolonien entwickelt. Nach 24 stündigem Wachstum sind die Kolonien etwa stecknadelkopfgroß, knopfförmig prominierend,

von gelblichweißer Farbe. Konfluieren die dicht stehenden Kolonien, so entsteht ein gelblichweißer Belag, der noch ein deutlich körniges Aussehen darbietet.

Tierversuch.

Die Impfung von Meerschweinchen wird zu diagnostischen Zwecken vorgenommen, wenn es sich um die Identifizierung der Diphtheriebazillen gegenüber diphtherieähnlichen Bakterien handelt. Man geht dabei so vor, daß man Meerschweinchen von 200 bis 300 *g* Gewicht 2 *cm*³ einer 48stündigen, bei 37° gezüchteten Bouillonkultur subkutan injiziert. Die Tiere werden schon nach kurzer Zeit krank, an der Impfstelle fühlt man nach 12—24 Stunden ein deutliches Infiltrat. Nach 2 bis 3 Tagen gehen sie zugrunde. Bei der Sektion findet sich an der Injektionsstelle eine sulzige, ödematöse, blutig gefärbte Schwellung des Unterhautzellgewebes; in der Bauchhöhle und den Pleurahöhlen sind seröse, häufig auch hämorrhagische Exsudate nachweisbar. Charakteristisch ist der Befund an den Nebennieren; dieselben sind vergrößert, hyperämisch, ihr Gewebe ist von kleinen punktförmigen Blutungen durchsetzt. In dem Ödem der Impfstelle lassen sich die Diphtheriebazillen meist mikroskopisch und kulturell nachweisen.

Waren die Bazillen weniger virulent, so tritt der Tod des Versuchstieres erst später ein und der Sektionsbefund ist dann nicht so typisch Bei weiterer Verminderung der Virulenz entsteht nur an der Injektionsstelle eine lokale Entzündung, die zur Hautnekrose führt und zur Heilung kommt.

Differentialdiagnose.

Differentielldiagnostisch kommen die Pseudodiphtheriebazillen (*Hoffmann*sche Bazillen) und Xerosebazillen in Betracht. Die ersteren gehören zu den normalen Bewohnern des Rachens, die letzteren kommen auf der Konjunktiva und in der Nase vor. Die morphologischen Unterschiede zwischen Pseudo- und echten Diphtheriebazillen treten am deutlichsten in Klatschpräparaten von jungen, 6—10stündigen Blutserumkulturen hervor. Hier zeigen sich die Pseudodiphtheriebazillen meist als kurze, plumpe, oft keilförmig gestaltete Stäbchen;

es fehlen die charakteristischen langen Formen, welche gleichalterige Diphtheriebazillenkulturen aufweisen. Auch die typische Gruppierung der Bazillen wird vermißt; die Pseudodiphtheriebazillen liegen meist mit den Längsseiten parallel nebeneinander, palisadenartig angeordnet. In Ausstrichpräparaten aus älteren (16- bis 24stündigen) Kulturen kann die Unterscheidung schwierig sein.

Tinktoriell unterscheiden sich die Pseudodiphtheriebazillen von den echten Diphtheriebazillen durch den negativen Ausfall der *Neisser*schen Färbung, kulturell durch das üppige Wachstum auf Agar und die anfangs langsamere Entwicklung auf Serum. Die Kolonien sind von grauweißer Farbe, feuchtglänzend, etwas wachsartig. Auffällig ist die weiche, zerfließliche Konsistenz, welche sie bei Berührung mit der Platinnadel zeigen. Beim Wachstum in Bouillon ferner tritt keine Säurebildung ein, vielmehr ist schon nach wenigen Tagen eine Zunahme der Alkaleszenz zu konstatieren.

Der Tierversuch fällt, in der oben angegebenen Weise angestellt, negativ aus.

Die Xerosebazillen gleichen in ihrem Aussehen den langen Wuchsformen der Diphtheriebazillen, zeigen aber auf Serum und Glyzerinagar ein langsameres Wachstum als diese. Nach 6 Stunden sind sie auf Blutserum so wenig entwickelt und haften so fest am Nährboden, daß im Klatschpräparat keine typischen Haufen erscheinen. Auch nach 20 Stunden ist die Entwicklung der Kolonien noch nicht sehr bedeutend und gestattet noch die Herstellung des Klatschpräparates, was bei echten Diphtheriebazillen infolge ihres üppigeren Wachstums nicht mehr möglich ist.

Durch die *Neisser*sche Methode lassen sich die Xerosebazillen von den Diphtheriebazillen nicht immer trennen, da auch Xerosebazillen häufig die Polfärbung annehmen. Das sicherste Differenzierungsmittel stellt der Tierversuch dar, indem sich Xerosebazillen als avirulent erweisen.

Gang der Untersuchung.

Mit dem eingesandten Material werden 4 ungebrauchte, über der Flamme sterilisierte Deckgläschen bestrichen. Die

Präparate werden mit 10fach verdünnter *Ziehl*scher Lösung, mit *Löffler*schem Methylenblau, nach *Roux* und nach *Gram* gefärbt. Zweitens werden Kulturen auf Blutserum und Glyzerinagar angelegt.

Untersuchung der Ausstrichpräparate: In einzelnen Fällen sieht man schon in den Ausstrichpräparaten zahlreiche Bazillen, welche in Form und Lagerung den Diphtheriebazillen gleichen, so daß man schon aus diesem Befunde die Wahrscheinlichkeitsdiagnose auf Diphtherie stellen kann; jedoch ist zur Abgabe des definitiven Gutachtens stets das Resultat des Kulturverfahrens abzuwarten. In einer sehr großen Reihe von Fällen sind jedoch nur vereinzelte verdächtige Stäbchen nachweisbar oder dieselben fehlen vollkommen. Es finden sich Diplo-, Strepto-, Staphylokokken, nach *Gram* entfärbte Stäbchen, Spirillen etc. Trotzdem kann, wie später der Ausfall des Kulturverfahrens erweist, Diphtherie vorliegen.

Untersuchung der Platten: Von der Serumplatte werden nach 6stündigem Verweilen im Brutschrank Klatschpräparate gemacht und mit Fuchsin oder *Löffler*schem Methylenblau gefärbt. Sind die oben beschriebenen Stäbchen, in typischen Haufen angeordnet, nachweisbar, so ist die Diagnose Diphtheritis sehr wahrscheinlich. Nach 10—18stündigem Wachstum werden die Platten wiederum geprüft. Enthielt das Untersuchungsmaterial entwicklungsfähige Diphtheriebazillen, so haben dieselben sich jetzt nahezu in Reinkultur zu charakteristischen Kolonien entwickelt. Es werden nun Abstrichpräparate von der Serumplatte hergestellt und mit *Löffler*schem Methylenblau, nach *Roux* und *Neisser* gefärbt. Finden sich in denselben fast ausschließlich Stäbchen, welche die charakteristische Polfärbung zeigen, so kann die Diagnose Diphtheritis abgegeben werden, wenn das Ausgangsmaterial von einem erkrankten Menschen stammt und aus dem Rachen entnommen ist.

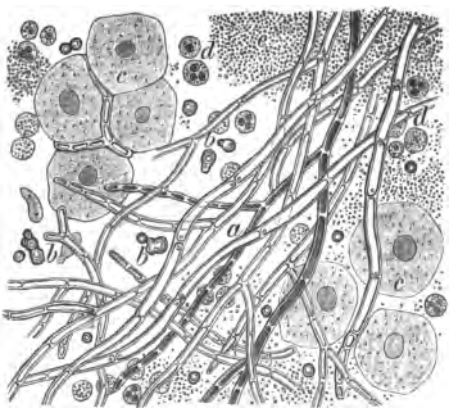
Sind nach 12—24 Stunden ausschließlich Kokken gewachsen, so ist es sehr unwahrscheinlich, daß Diphtherie vorliegt; jedenfalls muß die Platte am nächsten Tage nochmals untersucht werden, da in seltenen Fällen noch nachträglich Diphtheriebazillen zur Entwicklung kommen, namentlich wenn

kurz vor der Entnahme des verdächtigen Belages Gurgelungen oder dergleichen angewandt waren.

Auf der Glyzerinagarplatte können nach 12stündigem Verweilen bei 37° ebenfalls die Kolonien der Diphtheriebazillen bereits sichtbar sein; aber auch die übrigen Mikroorganismen, welche im Untersuchungsmaterial vorhanden waren, sind schon nach dieser Zeit zur Entwicklung gekommen.

Die Identifizierung dieser Bakterien geschieht nach den bei der Sputumuntersuchung geschilderten Methoden.

Fig. 3.



a Soorpilz, *b* Conidien, *c* Epithelien, *d* Leukozyten, *e* Detritus.

Soorpilz, Oidium albicans (Fig. 3).

Der Nachweis des Soorpilzes gelingt am besten in den aus den verdächtigen Belägen unter Zusatz eines Tropfen Wassers oder Glyzerins hergestellten, ungefärbten Präparaten. In denselben sieht man doppelt konturierte, glashelle, mit queren Scheidewänden und Einkerbungen versehene Mycelfäden, welche oft seitliche, sich untereinander verflechtende Ausläufer besitzen. Zwischen den Fäden finden sich die teils kugelig, teils zylindrisch gestalteten Konidien. Die Färbung der Prä-

parate kann nach *Gram* oder *Kühne-Weigert* (cf. Seite 276) vorgenommen werden.

Die Züchtung des Pilzes ist für die Diagnose nicht erforderlich. Dieselbe gelingt leicht auf den üblichen Nährböden; auf Agar entstehen porzellanartig glänzende, weiße Kolonien, welche sich aus hefeartigen, ovalen Zellen zusammensetzen und nur vereinzelte, kurze Mycelfäden enthalten. Diese kommen in Galetinestichkulturen in den Ausläufern, welche seitlich vom Stichkanal abgehen, reichlicher zur Entwicklung. Gelatine wird nicht verflüssigt.

II. KAPITEL.

Bakteriologische Untersuchung des Nasensekretes.

Das Nasensekret wird mittelst Tupfersonde oder Platinöse unter Zuhilfenahme des Nasenspiegels entnommen.

Das Untersuchungsmaterial wird im gefärbten Ausstrichpräparat, kulturell und im Tierversuch geprüft. Es kommen besonders in Betracht Diphtheriebazillen, Tuberkelbazillen, Leprabazillen, Influenzabazillen und die zur Gruppe des Diplobazillus *Friedländer* gehörenden Mikroorganismen, die sogenannten Ozäna- und Rhinosklerombazillen.

Diphtheriebazillen. Der Nachweis der Diphtheriebazillen geschieht nach derselben Methode wie bei der Untersuchung von Rachenbelägen. Jedoch ist in Fällen, in welchen die Diphtherie nicht vom Rachen auf die Nasenhöhle übergegangen ist, wegen des überaus häufigen Vorkommens diphtherieähnlicher Stäbchen in der Nase zur Verifikation der gezüchteten Bakterien der Tierversuch erforderlich.

Tuberkelbazillen. Der Nachweis geschieht mit Hilfe des gefärbten Ausstrichpräparats. Zur Differentialdiagnose gegenüber den normalerweise in der Nase vorkommenden anderen säurefesten Stäbchen muß der Tierversuch herange-

zogen werden. Leprabazillen sind den Tuberkelbazillen gegenüber oft schon durch ihre charakteristische Lagerung ausgezeichnet.

Leprabazillen. Von dem mittelst Platinöse entnommenen Nasensekret werden Ausstrichpräparate hergestellt und nach der Tuberkelbazillenmethode und nach *Baumgarten* (cf. Seite 271) gefärbt (cf. Sputum-Untersuchung).

Zur Gruppe des Diplobazillus *Friedländer* gehörende Bakterien finden sich sehr häufig im Nasensekret gesunder Menschen. Die bei Ozäna und Rhinosklerom nachgewiesenen Mikroorganismen sind nicht mit Sicherheit vom Diplobazillus *Friedländer* zu trennen. Sie stimmen in ihrem morphologischen und kulturellen Verhalten sowie im Tierversuch fast völlig oder ganz mit diesem überein; die Abweichungen, welche sie mitunter aufweisen, sind nicht ausgesprochener als die Differenzen, welche auch verschiedene Stämme des Diplobazillus *Friedländer* selbst untereinander erkennen lassen. Auch mit Hilfe des Agglutinationsverfahrens ist es nicht gelungen, die 3 Bakterienarten voneinander zu differenzieren (*Klemperer* und *Scheyer*). Über den Nachweis dieser Bakterien und der Influenzabazillen cf. Sputum-Untersuchung.

III. KAPITEL.

Bakteriologische Untersuchung des Konjunktivalsekretes.

Das Untersuchungsmaterial kann mittelst der für die Entnahme von Halsbelägen angegebenen Tupfer gewonnen werden. Ist das Sekret dünnflüssig, so bedient man sich steriler Kapillarröhren, welche nach Aufnahme desselben auf beiden Seiten zugeschmolzen werden. Wird das Material sofort am Krankenbett verarbeitet, so entnimmt man es am besten mit der ausgeglühten Platinöse.

Für die Untersuchung kommen gewöhnlich das gefärbte Ausstrichpräparat und Züchtungsverfahren in Betracht; nur wenn es sich um Nachweis von Diphtherie- und Tuberkelbazillen handelt, kommt der Tierversuch in Frage.

Diphtheriebazillen. Ihr Nachweis geschieht nach der auf Seite 6 geschilderten Methode. Differentielldiagnostisch müssen die Xerosebazillen berücksichtigt werden (cf. Seite 6).

Tuberkelbazillen. Bei Tuberkulose der Konjunktiva gelingt der Nachweis der Tuberkelbazillen mitunter schon im Ausstrichpräparat; in vielen Fällen ist jedoch der Tierversuch erforderlich. Als Impfmaterial kann das Sekret eines Geschwürs oder auch ein Stückchen exzidierter Konjunktiva verwendet werden.

Vielfach wird in diesen Fällen die Impfung in die vordere Augenkammer des Kaninchens angewandt. Nachdem das Auge des auf dem Operationsbrett befestigten Tieres mit 10%iger Lösung kokainisiert ist, wird mit einer Fixierpinzette eine Falte der Konjunktiva gefaßt, der Bulbus nach unten gezogen und mit einem Lanzenmesser dicht am oberen Rande der Hornhaut eingestochen. Zur Vermeidung von Irisverletzung muß das Messer parallel der Iris bewegt und beim Zurückziehen seine Spitze durch Senken des Griffes nach der Hornhaut zu gerichtet werden. Das Impfmaterial wird mittelst Spritze oder Irispinzette durch die am oberen Rande der Hornhaut gesetzte Wunde in die vordere Augenkammer gebracht. Um einen Irisvorfall zu vermeiden, träufelt man gleich darauf Eserinlösung ein. In den nächsten Tagen werden zur Beseitigung der auf die Operation folgenden Reizerscheinungen Einträufelungen von Atropin-Kokainlösung vorgenommen.

Je nach der Menge der eingeführten Tuberkelbazillen und je nachdem sie von Anfang an frei lagen oder in Gewebe eingebettet waren, entwickelt sich nach einer bis mehreren Wochen eine Tuberkulose der Iris und schließlich kann käsige Phthisis des Augapfels entstehen. Schreitet die Tuberkulose weiter fort, so werden die benachbarten Lymphdrüsen, dann die Lungen ergriffen und es kommt zu einer allgemeinen Tuberkulose, die nach Wochen bis Monaten zum Tode führt.

Gonokokken. Der Nachweis der Gonokokken geschieht mit Hilfe des mit verdünntem Methylenblau und nach *Gram* gefärbten Ausstrichpräparates. Zu ihrer Identifizierung ist das Kulturverfahren erforderlich, da ihnen morphologisch und tinktoriell ähnliche Diplokokken im Konjunktivalsekret nachgewiesen sind (cf. Untersuchung des Urethralsekrets).

Koch-Weeksche Bazillen. Dieselben finden sich als Erreger akuter und chronischer Konjunktivitis im Sekret des Bindehautsackes. In den aus dem Sekret hergestellten, mit verdünntem Borax-Methylenblau gefärbten Präparaten finden sich besonders während des Anstieges und auf der Höhe der akuten Erkrankung, aber auch bei chronischen Fällen zahlreiche feine, schlanke, den Influenzabazillen ähnliche Stäbchen von verschiedener Länge. Dieselben liegen entweder innerhalb der Eiterzellen, die von ihnen vollgepfropft erscheinen, oder auch extrazellulär. Nach der *Gram*schen Methode tritt Entfärbung ein.

Auf gewöhnlichem Agar gelingt die Kultivierung der Bazillen in der Regel nicht. Sie gedeihen auf Menschenblut- und Ascites-Agar und entwickeln sich in 24—48 Stunden zu kleinen feuchten, tautropfenähnlichen Kolonien.

Diplobazillus Morax-Axenfeld. Die durch diese Diplobazillen hervorgerufene Konjunktivitis liefert oft nur wenig Sekret. Man benutzt zur Herstellung des Ausstrichpräparates den Schleim, welcher sich gewöhnlich auf der Karunkel in geringer Menge findet. In den mit verdünntem Methylenblau gefärbten Präparaten zeigen sich die Bazillen, welche in ihrem Aussehen an den Diplobazillus *Friedländer* erinnern, teils frei, teils auf Epithelzellen liegend; sie sind meist zu zweien angeordnet und präsentieren sich als plumpe Stäbchen mit wenig abgerundeten Enden, einem etwas abgestumpften Rechteck gleichend. Sie entfärben sich nach *Gram*.

Die Diplobazillen wachsen auf Blutserum oder serumhaltigem Agar. Das Blutserum wird verflüssigt, und es ist nach 24 Stunden eine Unebenheit in Gestalt kleiner, feuchter, etwas eingesunkener und durchscheinender Stellen zu sehen, die sich allmählich mehr und mehr vertiefen *(Axenfeld)*. In Reinkulturen kommt es schon nach 2 Tagen zur Bildung

mannigfacher, zum Teil barocker, sehr großer Involutionsformen.

Auch Influenzabazillen, Pneumo-, Strepto-, Staphylo- und Meningokokken werden im Konjunktivalsekret als Erreger von Bindehautkatarrhen gefunden. Über den Nachweis dieser Bakterien cf. Untersuchung des Sputums und der Punktionsflüssigkeiten.

IV. KAPITEL.

Untersuchung des Sputums.

Gewinnung des Sputums zur Untersuchung.

Der Auswurf muß in einem sauberen, am besten sterilisierten Gefäße aufgefangen und möglichst bald nach dem Aushusten untersucht werden. Ist dies nicht möglich, so empfiehlt es sich, denselben in $^1/_2$ %igem Karbolwasser, das sich als genügend entwicklungshemmend erwiesen hat, aufzufangen, stärkere Konzentrationen des Karbolwassers sind zu vermeiden; da sich das Sputum dann schlecht verarbeiten läßt. Derartiger Auswurf ist zu Züchtungsversuchen natürlich nicht brauchbar.

Die Patienten sind darauf aufmerksam zu machen, nur Sputum zur Untersuchung zu bringen, welches wirklich durch Husten und nicht durch Räuspern entleert ist. Um Verunreinigungen aus der Mundhöhle fern zu halten, läßt man den Mund vor dem Auswerfen mehrmals mit frisch abgekochtem Wasser spülen. Ist wenig Auswurf vorhanden, so benutzt man am besten das Morgensputum zur Untersuchung oder läßt, wenn es sich um den Nachweis von Tuberkelbazillen handelt, den Auswurf von einem ganzen Tage in einem gut verschließbaren, mit $^1/_2$ %igem Karbolwasser versehenen Gefäße sammeln. Um die Expektoration anzuregen, kann man Jodkali geben. Oder man läßt während der Nacht feuchte Umschläge mittelst Kreuzbinden über beide Schultern und am folgenden Morgen eine kalte Abreibung machen. Die unter der feuchten Wärme angesammelte Absonderung wird dann durch den Shockhusten herausbefördert.

Allgemeine Eigenschaften.

Über die allgemeinen Eigenschaften des Auswurfs gibt die makroskopische Betrachtung desselben, welche der mikroskopischen Untersuchung stets vorausgehen soll, Aufschluß. Zu diesem Zwecke wird das Sputum in eine flache Glasschale, sogenannte *Petri*sche Doppelschale, gegossen und auf dunklem Untergrund betrachtet. Es ist zu achten auf: Menge, Geruch, Schichtung, Farbe, Zusammensetzung des Auswurfs und besonders hervortretende Bestandteile desselben.

Menge des Auswurfs. Ist dieselbe bei den meisten Erkrankungen der Respirationsorgane auch eine überaus wechselnde, so ist doch für einzelne gerade die Massenhaftigkeit des produzierten Sputums charakteristisch. So werden auffallend große Mengen entleert bei durchgebrochenen Empyemen, Bronchiektasie, Lungengangrän und Abszeß.

Geruch. Frisch entleertes Sputum hat meist keinen charakteristischen Geruch. Es ist übelriechend, sobald es sich infolge längeren Stehens zersetzt. Einen widerlichen, oft aashaft fauligen Geruch besitzt der Auswurf bereits beim Aushusten bei Erkrankungen, bei denen seine Zersetzung schon innerhalb des Körpers vor sich gegangen ist. (Lungengangrän, putride Bronchitis etc.)

Schichtung. Bei Bronchiektasie, putrider Bronchitis und Lungenbrand sondert sich der Auswurf bald nach der Entleerung in 3 Schichten, einer oberen schaumigen von grüngelblicher Farbe, einer mittleren durchscheinend serösen und einer unteren undurchsichtigen von eitrigem Charakter. Eine Zweischichtung läßt das Sputum gewöhnlich nach längerem Stehen beim Lungenabszeß erkennen. Es bildet sich eine obere seröse, dem Eiterserum entsprechende Schicht und eine untere gelbe, undurchsichtige, welche die zelligen Elemente enthält.

Farbe. Dieselbe hängt im allgemeinen vom Reichtum des Auswurfs an zelligen Elementen ab; sie ist hell, glasig beim zellarmen, undurchsichtig bis gelb beim zellreichen Sputum. Am auffälligsten ist seine Färbung durch Beimengung von Blut. Hellrot schaumig erscheint es bei Blutungen aus arrodierten Gefäßen, pathognomonisch ist sein rostfarbenes Aussehen bei Pneumonie, dunkel schwärzlich ist seine Farbe beim hämorrhagischen Infarkt und beim Ablauf phthisischer Blutung. Der dünnflüssige Auswurf beim Lungenödem ist je nach dem Blutgehalt gelblich, rosafarben oder dunkelrot; er ist pflaumenbrüheartig beim entzündlichen Ödem im Anschluß an kruppöse Pneumonie. Ein himbeergeleeartiges Aussehen kann der Auswurf darbieten bei Hämoptoe infolge von Neoplasmen. Ist

bluthaltiger Auswurf zersetzt, wie bei Lungengangrän, so zeigt er eine braune oder auch schmutziggrüne Farbe.

Eine grüne Verfärbung kann das Sputum auch annehmen infolge von Pigmentbildung durch Bakterien (B. pyocyaneus, B. fluorescentes, Sarcinearten etc.).

Zusammensetzung des Auswurfs. Man unterscheidet schleimigen, schleimig-eitrigen, reineitrigen und blutigen Auswurf.

I. Das schleimige Sputum.

Dasselbe kann rein schleimig oder wässerig-schleimig sein. Der rein schleimige Auswurf ist durchscheinend, von weißlichgrauer Farbe und zäher, fadenziehender Konsistenz. Das wässerig-schleimige Sputum ist flüssiger, weniger zähe als das rein schleimige und häufig so reich an Luftblasen, daß die ganze Auswurfsmasse von einer Schaumdecke überzogen ist. Die schleimigen Teile liegen als Flocken oder Ballen in der flüssigen Grundsubstanz.

II. Das schleimig-eitrige Sputum.

Dasselbe kann schleimig-eitrig, innig gemengt oder eitrig-schleimig, nicht homogen sein. Im ersteren Falle bildet der Auswurf eine ziemlich homogene Masse von undurchsichtigem, gelbweißem Aussehen und immer noch relativ zäher, klebriger Konsistenz. Erst bei Betrachtung im auffallenden Licht kann man die durchscheinenden schleimigen Partien von den rein eitrigen deutlich unterscheiden. Die letzteren durchziehen als Streifen die schleimige Masse. Die innige Vermischung von Eiter und Schleim weist darauf hin, daß beide der gleichen Stelle des Respirationstraktus ihre Entstehung verdanken.

Im eitrig-schleimigen, nicht homogenen Sputum überwiegt der Gehalt an Eiter die schleimigen Bestandteile. Die eitrigen, grünlichgelben, undurchsichtigen Partien sind nicht mit dem Schleim vermischt, sondern bilden entweder rundliche, münzenförmige Ballen (Sp. rotundum) oder fließen nach längerem Stehen zusammen, senken sich zu Boden und es entsteht das Bild des geschichteten Auswurfs.

III. Der rein eitrige Auswurf.

Derselbe ist von grünlichgelber Farbe, homogenem Aussehen und dickflüssiger Konsistenz. Die ihn charakterisierende Trennung in 2 Schichten ist bereits erwähnt.

IV. Der blutige Auswurf.

1. Rein blutiges (hämoptoisches) Sputum ist entweder flüssig, hellrot schaumig oder bei der Entleerung bereits zu dicken Klumpen geronnen. Schwierig ist mitunter die Frage nach der Herkunft des Blutes zu beantworten; aus dem Aussehen des Blutes allein ist die Differentialdiagnose zwischen Hämoptoe und Hämatemesis nicht ohne weiteres zu stellen. Das aus dem Magen stammende Blut zeigt zwar häufig ein charakteristisches schwarzbraunes, schokoladenfarbiges Aussehen, jedoch kann es auch hellrot, dem arteriellen ähnlich sein. Selbst die Beimischung von Mageninhalt ist nicht immer entscheidend, da auch bei starker Hämoptoe Brechbewegungen ausgelöst werden können. Einen Anhaltspunkt vermag die Beschaffenheit der Gerinnsel zu geben. Das hämoptoische Blut gerinnt gewöhnlich schneller und vollkommener als das erbrochene, und das Gerinnsel zeigt auf dem Durchschnitt zahlreiche, von der beigemischten Luft herrührende Hohlräume, die ihm ein schwammähnliches Aussehen verleihen. Entscheidend für die Diagnose Hämoptoe ist der Nachweis von Sputumflocken im Blute. In einer großen Reihe von Fällen wird jedoch nur die Anamnese und Untersuchung des Patienten selbst Aufklärung verschaffen.

2. Blutig tingiertes Sputum: Das Blut durchzieht in Form von Flocken oder Streifen den schleimigen, schleimig-eitrigen oder eitrigen Auswurf.

3. Innig mit Blut gemischtes Sputum: Dasselbe wechselt in seinem Aussehen je nach der Qualität des dem Blute beigemischten Auswurfs:

a) Das schleimig-blutige Sputum ist von gelber bis rostbrauner Farbe und zäher Konsistenz. Es ist charakteristisch für die Entzündung der Alveolen und kleinsten Bronchien.

b) Das serös-blutige Sputum ist dünnflüssig, enthält zahlreiche Luftblasen und zeigt eine dunkelbraune bis schwarze Farbe; sein Aussehen wird als pflaumenbrüheähnlich bezeichnet.

c) Das eitrig-blutige, innig gemischte Sputum weist auf das Bestehen von großen Hohlräumen hin, in denen es durch Mischung des eitrigen Sekrets mit mehr oder weniger veränderten Blutbestandteilen entsteht. Es werden 2 Formen dieses Sputums unterschieden, je nachdem es bald nach der Sekretion oder erst nach längerer Retention in den Hohlräumen entleert wird. Im ersteren Falle werden luftleere münzenförmige Ballen mit schmutzigrotem Zentrum und deutlich rot gefärbter Peripherie ausgehustet, welche im Wasser rasch zu Boden sinken (Sp. globosum fundum petens).

Im letzteren Falle zeigt der Auswurf ein homogenes Aussehen und eine schmutzigrote bis lehmbraune Farbe (Lungengangrän, Bronchiektasie).

Besonders hervortretende Bestandteile des Sputums.

Die sogenannten Linsen (Corpuscula oryzoidea) sind stecknadelkopf- bis linsengroße, undurchsichtige Gebilde von gelblichweißer Farbe und käsiger Konsistenz. Sie lassen sich aus dem eitrigschleimigen Sputum, in dem sie gewöhnlich angetroffen werden, ohne Mühe isolieren. Sie entstammen den Kavernen und sind von diagnostischer Bedeutung, weil sie gewöhnlich sehr reich an Tuberkelbazillen und elastischen Fasern sind. Diese Linsen dürfen nicht mit den ihnen ähnlich sehenden Tonsillarpfröpfen und Speiseresten

Fig. 4.

Fibringerinnsel aus pneumonischen Sputis.

verwechselt werden. Durch die mikroskopische Untersuchung werden sie von diesen unterschieden.

*Dittrich*sche Pfröpfe sind grauweiße bis bohnengroße Gebilde, welche sich im Sediment des Sputums bei Lungengangrän finden.

Gewebsteile können sich bei ulzerativen Prozessen der Respirationsorgane im Auswurf finden. Am häufigsten kommen sie im Sediment des gangränösen Sputums vor und erscheinen als zottige, schwarze oder schwarzgraue Fetzen, die bei der mikroskopischen Untersuchung als abgestorbenes Lungengewebe erkannt werden. Geschwulststückchen können sich bei Neoplasmen der Lungen im Auswurf zeigen, ihr Vorkommen ist jedoch überaus selten.

*Curschmann*sche Spiralen erscheinen als geschlängelte, gegen die übrige formlose Sputummasse scharf abgegrenzte Fäden von grauweißer Farbe und auffallend fester Konsistenz (Fig. 5 u. 6).

Fibringerinnsel (Fig. 4) sind weiße, baumartig verzweigte, röhrenförmige Bildungen, welche eine Länge von mehreren Zentimetern erlangen können. Sie entstehen infolge Fibringerinnung in den Bronchien, deren Abgüsse sie darstellen. Sie dürfen nicht mit makroskopisch ähnlich aussehenden, aber aus eingedicktem Schleim bestehenden Gerinnseln verwechselt werden, welche viel häufiger als echte Fibringerinnsel im Auswurf auftreten. Durch mikroskopische und mikrochemische Untersuchung können beide voneinander unterschieden werden. Man bekommt die Verzweigungen sehr deutlich zu Gesicht, wenn man die aus dem Sputum herausgefischten Gerinnsel in Wasser auswäscht.

Aktinomyces-Körner erscheinen als sandkorngroße, ziemlich feste Körper von gelblicher, gelbgrüner oder auch schwarzer Farbe. Daneben finden sich auch graue, leicht zerdrückbare Körnchen, welche gallertartig, glasig, schleimklumpenähnlich aussehen.

Speisereste sind sehr häufig dem Auswurf beigemischt und finden sich besonders in den schleimigen, aus den oberen Luftwegen stammenden Partien desselben.

Die mikroskopische Untersuchung.

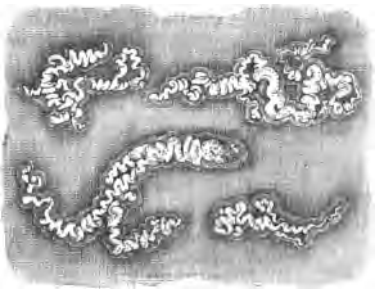
Die Partikel des Sputums, welche einer Untersuchung im mikroskopischen Präparat unterzogen werden sollen, werden am besten mittelst zweier Platinspatel, die vor und nach jedem Gebrauch ausgeglüht werden können, aus der sie umgebenden Sputummasse isoliert, auf dem Objektträger ausgebreitet, mit dem Deckglase bedeckt und zunächst bei schwacher und dann bei stärkerer Vergrößerung untersucht.

Mit der Untersuchung des frischen Präparates werden häufig mikrochemische Reaktionen verbunden. Die am meisten benutzten Reagenzien sind verdünnte Essigsäure und 8—10% Kalilauge. Um ein Eindringen der Reagenzien in das Untersuchungsmaterial zu ermöglichen, werden beide auf dem Objektträger miteinander verrieben und dann erst mit einem Deckglase bedeckt.

Der Untersuchung im ungefärbten Präparat werden vor allem die Gebilde unterworfen, welche bei der makroskopischen Durchmusterung des Sputums, das in eine auf dunklem Grunde stehende Schale ausgegossen ist, besonders auffallen.

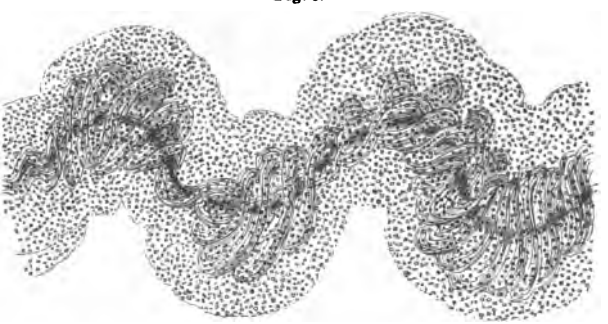
Die **Curschmannschen Spiralen** (Fig. 5 u. 6), welche wegen ihrer zähen Konsistenz nicht ohne Mühe zwischen Objektträger und Deckglas zerquetscht werden können, lassen, wenn man das Präparat gegen das Licht hält, schon makroskopisch

Fig. 5.



Spiralen aus dem Sputum. (Natürliche Größe.)

Fig. 6.



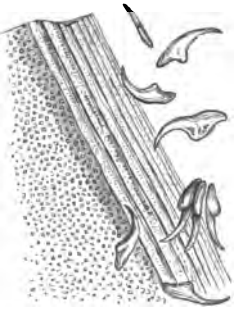
Spirale aus dem Sputum. (Mikroskopisch vergrößert.)

eine deutliche Schlängelung erkennen. Im mikroskopischen Bilde präsentieren sie sich als durchscheinende, aus zahlreichen dichten und zarten Windungen bestehende Spiralen, in deren Achse gewöhnlich ein Zentralfaden verläuft. Sie sind in der Regel dicht mit Leukozyten bedeckt, zwischen welchen sich

oft *Charcot-Leyden*sche Kristalle finden. Gewöhnlich tritt erst auf Zusatz von Essigsäure die Struktur der Spiralen deutlich hervor.

Die **Fibringerinnsel** setzen sich aus Bündeln parallel gelagerter, lichtbrechender Fasern zusammen, zwischen welchen mehr oder weniger zahlreiche Leukozyten sowie auch rote Blutkörperchen und mitunter *Charcot-Leyden*sche Kristalle sichtbar sind. Die ihnen mikroskopisch ähnlich sehenden Schleimgerinnsel bestehen dagegen aus einer homogenen Grundsubstanz, in der weiße Blutkörperchen eingebettet sind. Auf Zusatz von Essigsäure hellen sich die fibrinösen Gebilde

Fig. 7.



Echinokokkushaken und Reste der Blasenwandung.

auf, während die Schleimgerinnsel sich trüben; gleichzeitig nimmt ihre Grundsubstanz ein streifiges Aussehen an.

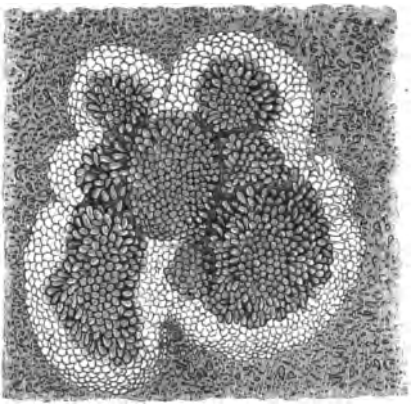
Die **Gewebsfetzen**, welche im gangränösen Sputum auffallen, enthalten Bindegewebsfasern, deren alveoläre Anordnung sie als Reste abgestorbenen Lungengewebes erkennen läßt; selten sind in ihnen elastische Fasern nachweisbar. Die Bindegewebsfasern pflegen von einer großen Masse verschiedenartiger Bakterien, fettigem Detritus, Fettsäurenadeln, Tripelphosphaten und dunklen Pigmentkörnern umgeben zu sein. Die Parenchymfetzen, welche beim subakuten oder chronischen Lungenabszeß im Sputum vorkommen, enthalten dagegen fast stets elastische Fasern, einzeln oder in alveolärer An-

ordnung, außerdem setzen sie sich aus zahlreichen Bakterien, fettig degenerierten Zellen und Fettsäurenadeln zusammen und enthalten mitunter auch Hämatoidinkristalle und die sonst selten im Auswurf vorkommenden Cholesterin-Tafeln.

Die **Dittrichschen Pfröpfe** bestehen hauptsächlich aus Detritusmassen und einer außerordentlichen Anzahl verschiedenartiger Mikroorganismen.

Echinokokkusbestandteile werden (Fig. 7) expektoriert, wenn der Blasenwurm sich in den Lungen selbst

Fig. 8.



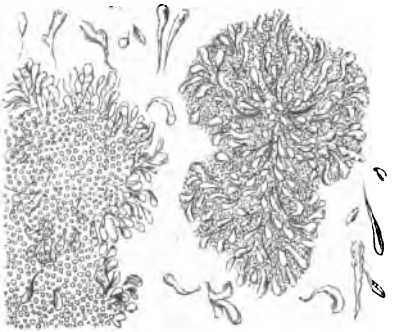
Aktinomyceskörnchen (schwache Vergrößerung).

angesiedelt hat oder aus der Nachbarschaft in dieselben durchgebrochen ist. In dem bei Lungenechinokokkus stets blutig, bei Kommunikation mit der Leber gallig oder ockergelb gefärbten Auswurf finden sich mitunter unversehrte Blasen mit wasserhellem Inhalt; in anderen Fällen sieht man die charakteristischen Haken oder Membranfetzen, die, fein zerzupft, die für Echinokokkusmembranen typische parallele Streifung erkennen lassen.

Aktinomyceskörner (Fig. 8, 9, 10). Die bei der makroskopischen Untersuchung auffallenden gelben, harten Aktinomyceskörner erscheinen bei schwacher Vergrößerung be-

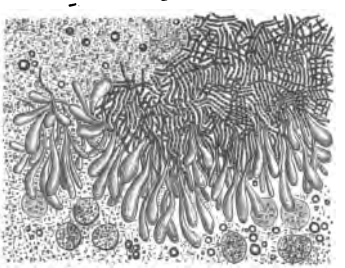
trachtet als rundliche oder unregelmäßig höckrige, feinkörnige, maulbeerartige Gebilde. Zerdrückt man sie mit dem Deckglase, so erhält man bei stärkerer Vergrößerung ein sehr charakteristisches Bild. Von einem aus einer Fadenmasse bestehenden, dichten Zentrum gehen sternförmig zahlreiche glänzende Fäden

Fig. 9.



Aktinomyceskörnchen, zerdrückt.

Fig. 10.



Aktinomyceskörnchen (ungefärbtes Präparat).

aus, welche sich vielfach verzweigen und mit kolbenförmigen Anschwellungen enden (Aktinomycesdrusen). In der zentralen Fadenmasse finden sich nicht selten Anhäufungen von schrauben-, stäbchen- und kokkenartigen Gebilden. Die grauen schleimklümpchenähnlichen Körner, welche sich neben den eigent-

lichen Aktinomycesdrusen im Sputum finden, sind von weicherer Konsistenz als diese und bestehen nur aus verzweigten Fäden. (Zur Färbung eignet sich die *Gram*sche Methode und Nachfärbung mit Eosin, wobei die Fäden blauschwarz, die Kolben rot erscheinen.)

Ferner gibt das ungefärbte Präparat Aufschluß über die zelligen Elemente des Auswurfs, das Vorhandensein von elastischen Fasern und kristallinischen Gebilden.

Zellige Elemente des Auswurfs.

1. Epithelzellen. Da das Sputum ein Sekretionsprodukt der verschiedenen Teile des Respirationstraktus darstellt, können Epithelien aus allen Abschnitten desselben in den Auswurf gelangen. Es finden sich:

a) Große polygonale Plattenepithelien, welche aus der Mundhöhle, dem Rachen oder von den Stimmbändern stammen. Die Plattenepithelien sind oft mit Kohlenpigment bedeckt.

b) Zylinderzellen, welche in seltenen Fällen mit Flimmerhaaren besetzt sind. Dieselben können in der Pars respiratoria der Nase, im Larynx oder in den Bronchien zur Abstoßung gekommen sein.

c) Alveolarepithelien. Diese kommen stets stark degeneriert im Sputum zu Gesicht und sind gewöhnlich nicht mehr mit Sicherheit als solche zu erkennen. Man bezeichnet als Alveolarepithelien ein- oder mehrkernige Zellen, welche ungefähr die 5- bis 6fache Größe der weißen Blutkörperchen besitzen und bald rundlich oder oval, bald polygonal gestaltet sind. Ihr Protoplasma ist häufig von stark lichtbrechenden Fetttröpfchen oder mattglänzenden Myelinkugeln erfüllt, welche zu großen Tropfen zusammenfließen können und dann die eigentümlichen Myelinformen darstellen. Ferner findet man in diesen Zellen oft schwarzes Kohlenpigment eingeschlossen (Pigmentzellen). Zu den Alveolarepithelien werden vielfach auch die mit rotbraunen Pigmentkörnchen beladenen Zellen, die sogenannten Herzfehlerzellen, gerechnet, welche in großer Anzahl bei der braunen Induration der Lungen im

Auswurf auftreten. Dieses Pigment, Hämosiderin genannt, ist ebenso wie das Hämatoidin aus Blutfarbstoff entstanden, aber im Gegensatz zu dem Hämatoidin eisenhaltig.

Nachweis des Hämosiderins: Man läßt eine Herzfehlerzellen enthaltende Sputumflocke auf dem Deckglase antrocknen, fixiert und träufelt eine 2% Ferrocyankaliumlösung darauf, der 1 bis 3 Tropfen HCl zugesetzt sind. Nach ½ bis 1 Stunde tritt Blaufärbung ein.

2. Leukozyten. Dieselben finden sich in wechselnder Anzahl in jedem Sputum, in großer Menge als Hauptbestandteil des Eiters. Sie sind meist mehr oder weniger degeneriert, vorwiegend mehrkernig und zeigen gewöhnlich neutrophile Granulationen. Zahlreiche eosinophile Leukozyten sind besonders im Auswurf von Asthmatikern nachweisbar. (Die Färbung nach *May* und *Grünwald* [cf. Seite 222] gibt auch hier gute Bilder.) Die Leukozyten beherbergen ebenso wie die sogenannten Alveolarepithelien häufig Pigmentkörner, und zwar sowohl Kohlenpigment als auch veränderten Blutfarbstoff. Man nimmt jetzt allgemein an, daß die sogenannten Herzfehlerzellen nicht allein aus Alveolarepithelien, sondern vielmehr größtenteils aus Leukozyten hervorgehen.

3. Rote Blutkörperchen. Vereinzelte rote Blutkörperchen finden sich in jedem Auswurf; eine diagnostische Bedeutung kommt ihnen nicht zu. Erst wenn sie in großer Menge auftreten, weisen sie auf Blutungen in den Respirationsorganen hin. Sie können in Form und Farbe vollkommen intakt sein, in anderen Fällen aber erscheinen sie verändert: sie sind aufgebläht oder eingeschrumpft oder haben ihren Farbstoff verloren (Schatten).

Elastische Fasern (Fig. 11).

Das Material zur Untersuchung auf elastische Fasern muß aus den undurchsichtigen, eitrigen Stellen des Sputums entnommen werden. Fast regelmäßig finden sie sich in den sogenannten Linsen.

Um das Aufsuchen der elastischen Fasern zu erleichtern, verreibt man das Untersuchungsmaterial mit einem Tropfen

10% Kalilauge und erwärmt das Präparat, nachdem es mit dem Deckglase bedeckt ist, leicht über kleiner Flamme. Hierdurch werden die zelligen Elemente zerstört, während die elastischen Fasern erhalten bleiben. Gelingt ihr Nachweis auf diese Weise nicht, so bringt man einige Sputumballen in ein Reagenzglas, fügt die gleiche Menge 10% Kalilauge hinzu, kocht, bis das Ganze homogen erscheint, verdünnt mit der vierfachen Menge Wasser und zentrifugiert. Aus dem durch Zentrifugieren erhaltenen Sediment

Fig. 11.

Elastische Fasern aus dem Auswurfe.

werden Präparate hergestellt und bei zirka 300facher Vergrößerung durchmustert.

Die elastischen Fasern erscheinen stark lichtbrechend, eigentümlich geschwungen, scharf begrenzt, doppelt konturiert und häufig verästelt. Sie liegen einzeln, in längsfaserigen Bündeln oder zeigen netz- oder maschenförmige (alveoläre) Anordnung.

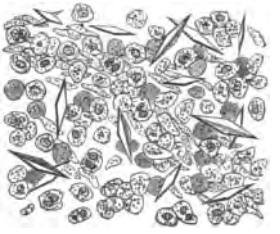
Es ist daran zu denken, daß auch aus der Nahrung elastische Fasern in den Auswurf gelangen können. Nur wenn dieselben in alveolärer Anordnung gefunden werden, läßt sich stets mit Sicherheit sagen, daß sie aus den Lungen stammen.

Kristallinische Gebilde.

Von kristallinischen Gebilden sind besonders die *Charcot-Leiden*schen Kristalle von diagnostischer Bedeutung (Fig. 12). Dieselben erscheinen als wasserhelle, glänzende, spitze Oktaeder, die in ihrem Aussehen den Spermakristallen gleichen. Besonders zahlreich erscheinen sie, wenn man das Sputum eine Zeitlang offen stehen läßt. Auch unter dem Mikroskop kann man in der mit dem Deckglas bedeckten Sputumflocke ihr Aufschießen beobachten.

Außerdem finden sich Fettsäurenadeln, welche gegenüber ähnlich aussehenden Gebilden, z. B. elastischen Fasern, dadurch

Fig 12.



*Charcot-Leyden*sche Kristalle.

charakterisiert sind, daß sie bei vorsichtigem Erwärmen des Präparates zu Fetttropfen zusammenlaufen. Ferner sieht man Kristalle von oxalsaurem Kalk, Tripelphosphate, Cholesterintafeln, sowie Leucin- und Tyrosinkristalle. Schließlich Hämatoidinkristalle in Form rotgelber oder rubinroter rhombischer Tafeln und geschwungener Nadeln, welche frei liegen oder von den Tafeln büschelförmig ausgehen.

Bakteriologische Untersuchung des Auswurfs.

Vorbereitung des Auswurfs zur Untersuchung.

Nur dasjenige Sputum ist zur bakteriologischen Untersuchung geeignet, welches wirklich aus den erkrankten Luft-

wegen stammt. Für die Untersuchung muß das eigentliche Bronchial- resp. Lungensputum von den ihm beim Passieren der oberen Luftwege beigemischten Sekreten getrennt werden, da diese häufig normalerweise gerade die für Lungenerkrankungen bedeutungsvollen Mikroorganismen enthalten.

Diesem Zwecke dienen die *Pfeifer*sche und die *Koch-Kitasato*sche Methode.

Nach dem Vorschlage *Pfeifers* wird dem Sputum, welches in eine sterile, auf dunkler Unterlage stehende Petrischale ausgegossen ist, eine möglichst dichte, undurchsichtige Stelle entnommen und auf dem Deckel der Schale ausgebreitet. Mit Hilfe zweier Platinspatel wird diese Flocke auseinandergezerrt und aus ihrer Mitte ein rein eitriges Pünktchen (Kernflocke) isoliert.

Nach der *Koch-Kitasato*schen Methode wird ein Sputumballen in einer Reihe mit sterilem Wasser gefüllter Schalen nacheinander unter starkem Umschwenken mittelst kräftiger Platinnadel ausgewaschen; hierbei werden die Sputumballen rasch kleiner und lösen sich schließlich in kleinste Partikel auf, von diesen wird eine kleine Eiterlinse zur Untersuchung entnommen. *Czaplewski* hat das Verfahren dahin modifiziert, daß er die Sputumflocke nacheinander in 3 Peptonwasserröhrchen ausschüttelt.

Die Flocke, welche auf die eine oder andere Weise von dem ihr anhaftenden Schleim und den Bakterien, die sich ihr beim Passieren der oberen Luftwege zugesellt haben, befreit ist, kann zur Herstellung von Ausstrichpräparaten, zum Anlegen von Kulturen und zum Tierversuch verwandt werden.

I. Untersuchung im gefärbten Ausstrichpräparat. Die Flocke wird mittelst Platinspatels entweder direkt oder bei fibrinreichen Sputis nach Hinzufügen eines Tropfens sterilen Wassers vorsichtig auf dem mit der *Cornet*schen Pinzette gefaßten Deckglase ausgebreitet. Nachdem die Präparate an der Luft getrocknet und durch dreimaliges Durchziehen durch die Flamme fixiert sind, werden sie in folgender Weise gefärbt:

1. Nach einer der Methoden, welche der Tuberkelbazillenfärbung dienen (cf. Seite 229).

2. Färbung mit verdünntem Karbolfuchsin.

Das Präparat wird über kleiner Flamme bis zur Dampfbildung erwärmt und sofort abgespült, da in zu stark gefärbten Präparaten Einzelheiten schwer zu erkennen sind.

3. Färbung nach *Gram* (cf. Seite 269).

Die zuerst genannte Färbung dient allein dem Nachweis von Tuberkelbazillen.

Das mit verdünntem Karbolfuchsin gefärbte Präparat gibt Aufschluß:

a) über die Herkunft des Sputums;

b) über die mit Ausnahme der Tuberkelbazillen in ihm vorhandenen Bakterien;

c) über die Verwertbarkeit des bakteriologischen Befundes.

Die Herkunft des Sputums ist nicht immer mit Sicherheit aus dem mikroskopischen Bilde zu bestimmen. Einen Anhaltspunkt bilden die im Auswurf nachweisbaren Epithelzellen, welche von *Czaplewski* als „Leitzellen" bezeichnet worden sind.

Entstammt das Sekret dem Munde, dem Rachen oder Nasenrachenraum, so sieht man im Präparat zahlreiche große, meist dicht mit Bakterien besetzte Plattenepithelien. Daneben je nach dem Stadium der Entzündung mehr oder weniger zahlreiche Eiterzellen.

Das durch die Choanen aspirierte und ausgehustete Nasensekret zeigt neben einer wechselnden Menge Leukozyten Zylinderzellen, welche mitunter noch mit Flimmerhaaren besetzt sind, und aus dem gewöhnlich beigemischten Rachenauswurf herrührende Plattenepithelien; ferner findet man stets entsprechend der reichen Bakterienflora von Nase und Rachen große Mengen verschiedenartiger Mikroorganismen.

Der Bronchial- und Lungenauswurf enthält neben den Eiterzellen Zylinderepithelien und die ihn vor allem charakterisierenden Pigmentzellen.

Da abgesehen von Tuberkelbazillen nahezu alle bei der Sputumuntersuchung in Betracht kommenden Mikroorganismen mit verdünnten Anilinfarbstoffen leicht färbbar sind, werden sie in dem mit verdünntem Karbolfuchsin gefärbten Präparat zur Darstellung gebracht.

Findet sich in dem aus den tieferen Luftwegen stammenden Auswurf bei wiederholter Untersuchung stets eine Bakterienart in großer Menge, so kann man annehmen, daß dieselbe mit dem Krankheitsprozeß in ätiologischer Beziehung steht. Zeigt das Präparat dagegen ein Gemisch verschiedenartiger Bakterien, so ist der Befund nur dann diagnostisch verwertbar, wenn feststeht, daß dieselben bereits bei der Entleerung des Auswurfs in ihm vorhanden waren und nicht erst nachträglich eingewandert sind.

Das nach der *Gram*schen Methode gefärbte Präparat erleichtert einmal das Auffinden der nach *Gram* färbbaren Bakterien, welche, dunkel gefärbt, sich deutlich von dem braunen Untergrund, den die entfärbten zelligen Elemente bilden, abheben. Ferner zeigt es, wie die im Karbolfuchsinpräparat gefundenen Bakterien sich der *Gram*schen Methode gegenüber verhalten und trägt somit zur Identifizierung derselben bei.

II. Zu **Kulturversuchen** bedient man sich meist gewöhnlichen Agars, Glyzerinagars, Blutagars, des Blutserums sowie der Bouillon; andere Nährböden wie Agar-Hesse, Gelatine, Kartoffeln etc. kommen nur ausnahmsweise zur Verwertung. Die gewaschene Flocke wird entweder direkt oder nach Aufschwemmung in physiologischer Kochsalzlösung ausgestrichen. Vermutet man viele entwicklungsfähige Keime, so streicht man zur Erzielung isolierter Kolonien dieselbe Flocke auf mehreren Nährböden hintereinander aus.

III. **Tierversuch.** Weiße Mäuse, Meerschweinchen und Kaninchen sind die Versuchstiere, welche bei der Sputumuntersuchung am häufigsten benutzt werden. Die gewaschene Sputumflocke wird entweder direkt in eine Hauttasche geimpft oder nach Aufschwemmung in steriler 0·85% Kochsalzlösung subkutan oder intraperitoneal injiziert.

Nachweis von Tuberkelbazillen (Fig. 13). Man entnimmt das Material zu den Präparaten stets aus mehreren suspekten Stellen, besonders ist auf die sogenannten Linsen zu fahnden.

In den nach einer der auf Seite 269 geschilderten Methoden hergestellten Präparaten sind die Tuberkelbazillen rot, die

anderen Bakterien und die zelligen Elemente blau gefärbt. Die Tuberkelbazillen präsentieren sich als schlanke Stäbchen von wechselnder Länge und erscheinen nicht immer ganz gerade sondern oft leicht gekrümmt. Sie liegen in Haufen, einzeln oder zu zweien parallel oder in Winkelstellung zueinander; oft sind sie nicht gleichmäßig dick sondern ungleichmäßig körnig. Man sieht farblose Stellen zwischen gefärbten Körnern, so daß die Bazillen perlschnurartig erscheinen. Ferner findet man einzelne kleine, blau bis schwarzrot, „venös", gefärbte Gebilde, die als Fragmente von Bazillen gelten und von *Spengler* als Splitter bezeichnet worden sind. Sehr selten ist im Sputum das Vorkommen von Fadenformen mit echten Verzweigungen und kolbig verdickten Enden beobachtet.

Die Menge der im Präparat nachweisbaren Bazillen gestattet keinen Rückschluß auf den Verlauf der Erkrankung, da ihre Anzahl sowohl in den einzelnen Teilen desselben Auswurfs wie in den zu verschiedenen Tageszeiten entleerten Sputumportionen wechselnd ist. Trotzdem kann mitunter eine Zählung der Tuberkelbazillen in Frage kommen. Man kann sich der von *Gaffky* oder der von *Czaplewski* angegebenen Methode bedienen:

Skala nach *Gaffky*.

1 =	im ganzen Präparat nur	1—4 Bazillen.
2 =	durchschnittlich auf mehrere Gesichtsfelder	erst 1 Bazillus.
3 =	„ in jedem Gesichtsfeld	etwa 1 Bazillus.
4 =	„ „ „ „ „	2—3 Bazillen.
5 =	„ „ „ „ „	4—6 „
6 =	„ „ „ „ „	7—12 „
7 =	„ „ „ „	ziemlich viele Bazillen.
8 =	„ „ „ „	zahlreiche Bazillen.
9 =	„ „ „ „	sehr zahlreiche Baz.
10 =	in jedem Gesichtsfeld enorme Mengen	von Bazillen.

Czaplewskis Methode.

„In den Zähler eines Bruches kommt die Zahl der Bazillen, welche man in einem Gesichtsfelde zählt, in den Nenner die Zahl der entsprechenden Gesichtsfelder. Sind in einem oder mehreren ganzen Präparaten aber überhaupt nur wenige zählbare Bazillen, so kommt

in den Nenner die betreffende römische Zahl, welche der Zahl der untersuchten Präparate entspricht. Es bedeutet also

$\frac{6}{1}$ = 6 Bazillen in einem Gesichtsfelde,

$\frac{\infty}{1}$ = unendlich viele Bazillen in einem Gesichtsfelde,

$\frac{1}{5}$ = 1 Bazillus in 5 Gesichtsfeldern,

$\frac{2}{\mathrm{I}}$ = 2 Bazillen in einem ganzen Präparat,

$\frac{1}{\mathrm{VI}}$ = 1 Bazillus in 6 Präparaten

und so fort. Es ist dabei vielleicht zweckmäßig, das beobachtete Minimum und Maximum mit auszudrücken (z. B. $\frac{0-6}{1}$ etc.) und eventuell die Durchschnittszahl aus einer Anzahl von Gesichtsfeldern anzugeben $\left(\text{z. B. } \frac{0-6}{1} \text{ D.} = \frac{3}{1}\right)$."

„Zu bemerken ist jedoch, daß, da durch Wechsel im Objektiv-Okular oder der Tubuslänge der Durchmesser des Gesichtsfeldes sich ändert, die Angaben nur für die jedesmal benutzte optische Kombination richtig sind."

Sedimentierungsverfahren. Das zuerst von *Biedert* angewandte Verfahren hat den Zweck, das Sputum zu verflüssigen und zu homogenisieren und die in der Auswurfsmasse einzeln und zerstreut liegenden Bazillen im Sediment zu sammeln, um sie so leichter nachweisbar zu machen. Es ist eine große Reihe von Sedimentierungsmethoden angegeben worden.

Beitzke, welcher dieselben einer vergleichenden Untersuchung unterzogen hat, empfiehlt besonders die *Mühlhäuser-Czaplewski*sche Methode, welche in folgender Weise ausgeführt wird*:

„Man setze zuerst im Zylinderglas etwa die vierfache Menge 0·2%iger Natronlauge zum Sputum und schüttle recht energisch das mit Gummistopfen verschlossene Gefäß eine Minute lang. Oft gelingt es schon hiermit, eine gleichmäßige,

* Hygienische Rundschau, 12, Nr. 1.

dünnflüssige, nicht mehr schleimige Masse zu erzielen, in welcher größere Flocken nicht mehr sichtbar sind. Ist dies aber noch der Fall, so setze man nach und nach mehr Lauge hinzu, zwischendurch immer kräftig schüttelnd; gewöhnlich kommt man mit der achtfachen Menge aus; ich habe in einzelnen Fällen jedoch bis zur zwölffachen Menge gehen müssen. Hat auf diese Weise das Sputum seine schleimige Beschaffenheit vollkommen verloren, und ist es ganz dünnflüssig geworden, so gießt man es in eine Porzellan- oder emaillierte Blechschale und erhitzt unter Umrühren bis zum Sieden."

„Nachdem die Homogenisierung vollendet, setzt man 1 bis 2 Tropfen Phenolphthaleinlösung und weiterhin tropfenweise 5%ige Essigsäure unter starkem Umrühren hinzu, bis eben zum Verschwinden der Rotfärbung. Rührt man nicht energisch um, so gibt man leicht zuviel Essigsäure hinzu, worauf durch massenhaftes Ausfallen des Mucins der ganze Effekt des Verfahrens wieder verloren geht; ganz sicher tritt dies unliebsame Ereignis ein, wenn die Flüssigkeit vor dem Neutralisieren noch im geringsten schleimigen Charakter zeigte. Nach erfolgter Neutralisierung kann man im Spitzglas sedimentieren lassen oder aber zentrifugieren, nachdem man das verflüssigte Sputum mit Wasser oder mit zwei Teilen Alkohol verdünnt hat." Man zentrifugiert die gesamte Masse in einem einzigen Zentrifugengläschen, indem man nach dem Zentrifugieren die Flüssigkeit vom Bodensatz abgießt und immer von neuem auffüllt, bis das gesamte Sputum verarbeitet ist. Aus dem so erhaltenen Sediment werden dann gefärbte Ausstrichpräparate hergestellt.

Sedimentierungsverfahren nach *Spengler:* Das Sputum wird in einem Spitzglase mit der gleichen Menge durch Soda alkalisierten Wassers verrührt, mit 0·1—1·0 *g* Pankreatin gründlich vermischt und dann 24 Stunden bei Bruttemperatur der Verdauung überlassen, nachdem sofort oder nach 2—3 Stunden ein Karbolkristall von 0·1—1·0 *g* hinzugesetzt ist. Die Zellkerne und Bakterien, also auch die Tuberkelbazillen sind dann unverdaut im Sediment, das sich am Boden des Spitzglases ansammelt, erhalten. Erscheint der Niederschlag nach Abgießen der über ihm stehenden Flüssigkeit noch zu

voluminös, so wird er nochmals in alkalisiertem Wasser aufgeschwemmt und wieder Pankreatin zugesetzt.

Methode von *Dilg:* Der Auswurf wird mit Hilfe einiger Tropfen Ammoniak homogenisiert, mit dem gleichen Volumen 25%iger Kochsalzlösung vermischt und sofort zentrifugiert. Die Bazillen sammeln sich infolge des hohen spez. Gewichts der Flüssigkeit an der Oberfläche der zentrifugierten Probe an. Von derselben wird mittelst Pipette zirka $^1/_2$ cm^3 entnommen und auf den mittleren Teil eines Objektträgers gebracht. Die Fixierung des lufttrockenen Präparates erfolgt in 96%igem Alkohol.

Außer den genannten Methoden ist noch eine Reihe anderer angegeben worden, so von *Stroschein, van Ketel, Dahmen* etc.

Die Züchtung der Tuberkelbazillen aus dem Sputum kommt für diagnostische Zwecke kaum in Betracht, da sie zu langwierig ist und oft fehlschlägt. Sie gelang zuerst *Kitasato* nach folgender Methode: Der Patient wird angehalten, seinen Mund sorgfältig mit einem Gurgelwasser zu reinigen und dann seinen Auswurf in eine sterile Schale zu entleeren. Ein Sputumballen wird dann in der oben angegebenen Weise gewaschen, in der letzten Schale unter Wasser zerrissen, aus seiner Mitte ein Partikelchen entnommen und im gefärbten Präparat untersucht. Enthält das Sputum Tuberkelbazillen in Reinkultur, so wird ein zweites Partikelchen auf Glyzerinagar- oder Blutserumröhrchen geimpft. Der Wattepfropfen derselben wird oben kurz abgeschnitten, abgesengt und das Reagensglas mit einer in Sublimatlösung desinfizierten, noch feuchten Gummikappe verschlossen, um das Austrocknen des Nährbodens zu verhüten. Die nach zweiwöchentlichem Wachstum nachweisbaren Kolonien erscheinen als feucht glänzende, glatte, runde Flocken.

*W. Hesse** empfiehlt zur Züchtung der Tuberkelbazillen aus dem Auswurf folgendes Verfahren: Man läßt den Kranken aus der Tiefe der Brust hervorgebrachten Schleim, womöglich ohne Speichel, in eine sterile Doppelschale spucken. Von dem

* Zentralbl. f. Bakt., XXXV, Nr. 3.

Auswurf wird ein linsengroßer Teil mittelst Platinöse auf der Nährbodenoberfläche (Petrischalen) in 20—30 kleine Flöckchen zerzupft.

Herstellung des Nährbodens: 1 Teil Agaragar, 3 Teile Glyzerin, 96 Teile Wasser werden nach dem Filtrieren in 50 cm^3 fassende Reagiergläser aus widerstandsfähigem, kein Alkali abgebendem Glase gefüllt, so daß jedes Glas 20 cm^3 enthält. Die mit dem Nährboden versehenen Gläser werden etwa drei Stunden lang strömendem Dampf ausgesetzt. Der Nährboden soll die gleiche Alkaleszenz wie das zu untersuchende Sputum besitzen. Entweder setzt man zu diesem Zwecke zu 6 aufgeschmolzenen Agarröhrchen je 0, 0·2, 0·5, 1·0, 2·0, 5·0 $^1/_{10}$ Normalkalilauge hinzu, gießt sie zu Platten aus und impft diese in der oben angegebenen Weise. Dann ist zu erwarten, daß eine der Platten die gewünschte Alkaleszenz besitzt. Oder man wendet folgendes Verfahren an: Zu sechs Reagiergläsern mit je 20 cm^3 Wasser fügt man 0, 0·2, 0·5, 1·0, 2·0, 5·0 $^1/_{10}$ Normalkalilauge hinzu, bringt aus jedem Glase ein Tröpfchen auf einen Streifen Lackmuspapier. Eins der 6 Tröpfchen wird das Lackmuspapier ungefähr ebenso bläuen wie das Sputumflöckchen und anzeigen, wieviel Alkali dem Nährboden zuzusetzen ist, damit derselbe annähernd die Reaktion des Sputums erhält.

Die geimpften Schalen werden mit dem Nährboden nach oben in den Brutofen eingestellt, nachdem zwischen Schale und Deckel ein Streifchen Asbestpappe eingeklemmt und die Doppelschale mittelst Guttaperchaband abgedichtet wurde. Nach 1—2 Tagen werden die Platten mittelst Klatschpräparat geprüft, indem man ein steriles Deckgläschen über die Öffnung eines Reagiergläschens legt und von unten her vorsichtig da an die Nährbodenoberfläche andrückt, wo sich ein Sputumflöckchen befindet. Das Deckgläschen wird dann mittelst Platinöse vom Nährboden abgehoben und mit der Pinzette gefaßt. In dem Klatschpräparat läßt sich das Wachstum der Tuberkelbazillen nachweisen; nach einigen Züchtungstagen sind die Kolonien mit schwacher Vergrößerung, nach einigen Wochen mit bloßem Auge deutlich zu erkennen.

Sicherere Resultate als die Züchtung liefert der **Tierversuch:** Man benutzt hierzu halberwachsene Meerschweinchen von zirka 250 *g* Gewicht, die empfindlicher sind als ältere Tiere, und impft dieselben subkutan am Bauche oder am Bein in Kniehöhe, indem man eine gewaschene Flocke in eine Hauttasche bringt oder, in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt, injiziert. Die Impfung muß unter aseptischen Kautelen vorgenommen werden; die Haut wird rasiert und mit Alkohol abgerieben. Die subkutane Impfung hat vor der interperitonealen den Vorzug, daß man das etappenmäßige Vorwärtsschreiten der Tuberkulose verfolgen kann. Es bildet sich zunächst an der Einstichstelle eine Infiltration, alsdann erkranken die regionalen Lymphdrüsen, und nun erst pflanzt sich die Tuberkulose auf die inneren Organe fort.

Nach 3—4 Wochen kann man bereits im Eiter einer exstirpierten Drüse oder im Fisteleiter an der Injektionsstelle Tuberkelbazillen nachweisen. Wird 4—6 Wochen nach der Infektion das Versuchstier getötet, so findet man bei der Sektion ein Infiltrat an der Injektionsstelle, die der Impfstelle benachbarten Lymphdrüsen vergrößert und verkäst, auch die inneren Lymphdrüsen sind geschwollen und in den Organen, besonders in der Milz und Leber, sind mehr oder weniger zahlreiche Tuberkeleruptionen nachweisbar. Zum Nachweis der Tuberkelbazillen, der nie unterlassen werden darf, wird ein Tuberkelknötchen mit einem Skalpell oder Platinspatel auf dem Objektträger zerquetscht und in der üblichen Weise gefärbt. Man findet in den Tuberkelknötchen gewöhnlich nur vereinzelte Bazillen. Aus den Knötchen gelingt die Züchtung des Tuberkelbazillus leichter als aus dem Sputum. Man impft gewöhnlich eine größere Reihe von Blutserumröhrchen, die mit sterilen Gummikappen verschlossen werden. Das Impfmaterial wird zwischen zwei sterilen Objektträgern oder Skalpellen zerquetscht und muß gründlich in den Nährboden eingerieben werden. Nach frühestens 2 Wochen entstehen zuerst trockene, weißgelbliche Schuppen, aus denen sich schließlich ein Kulturrasen entwickelt, der eine fest zusammenhängende, faltige Membran bildet.

Differentialdiagnose: Im Sputum ist das Vorkommen von säurefesten Stäbchen, die keine Tuberkelbazillen sind, so selten, daß dadurch die Bedeutung des gefärbten Präparats für die Diagnose nicht beeinträchtigt wird. Es ist beobachtet in Fällen von Lungengangrän, Bronchiektasie und putrider Bronchitis. Bei diesen Krankheitszuständen ist daher Vorsicht in der Diagnose geboten. Diese säurefesten Stäbchen können sich zwar in ihrer Form von den Tuberkelbazillen unterscheiden; sie sind meist schlanker, starrer, gerader als die Tuberkelbazillen und an den Enden leicht zugespitzt, jedoch sind diese Differenzen bei dem wechselnden Aussehen, das der Tuberkelbazillus darbietet, zu gering, um eine sichere Diagnose zu gestatten. Auch die leichtere Entfärbbarkeit durch absoluten Alkohol ist kein konstantes Merkmal der übrigen säurefesten Stäbchen gegenüber den Tuberkelbazillen. Kulturell unterscheiden sie sich von den Tuberkelbazillen durch ihre Fähigkeit, sich schneller, auch bei Zimmertemperatur, auf künstlichen Nährböden zu entwickeln. Nach 24—48stündigem Wachstum auf Glyzerinagar haben sich stecknadelkopfgroße, weißlich glänzende Kolonien gebildet, welche allmählich zu einem weißen, sahnenförmigen Belag konfluieren. Bei weiterem Wachstum verschwindet der Glanz, die Oberfläche sieht trocken aus. Bei Zimmertemperatur entwickelt sich dann allmählich ein orangegelber Farbstoff. Die schließliche und sicherste Entscheidung liefert der Tierversuch, da die anderen säurefesten Stäbchen niemals das typische Krankheitsbild der Tuberkulose hervorrufen. Zusammen mit Butter intraperitoneal injiziert erzeugen sie zwar bei Meerschweinchen neben einer schwartigen Peritonitis Veränderungen, die makroskopisch den Tuberkelknötchen gleichen, sich aber bei der histologischen Untersuchung wesentlich von ihnen unterscheiden, da sie einen mehr exsudativen als proliferierenden Charakter zeigen und ferner die *Langhans*schen Riesenzellen sowie Epitheloidzellnester vermissen lassen. Schließlich finden sich in ihnen im Gegensatz zu den echten Tuberkelknötchen gewöhnlich zahlreiche säurefeste Stäbchen.

Differentielldiagnostisch kommen ferner auch die Leprabazillen in Betracht, welche gleichfalls säurefest sind. Sie

lassen sich im Gegensatz zu den Tuberkelbazillen auch durch wässerige Gentianaviolett- und Fuchsinlösung leicht färben (cf. Seite 271). Sie liegen selten einzeln, sondern gewöhnlich in Form zigarrenbündelähnlicher Pakete innerhalb der Zellen. Die endgültige Entscheidung liefern auch hier Kulturverfahren und Tierversuch. Der negative Ausfall beider spricht für Lepra, da es bisher noch nicht gelungen ist, den Leprabazillus zu züchten oder Versuchstiere damit zu infizieren.

Die anderen Bakterien, welche im Sputum vorkommen und sich in demselben sowohl als selbständige Krankheitserreger als auch als mischinfizierende Bakterien bei Tuberkulose finden, kommen in den mit verdünntem Karbolfuchsin und nach *Gram* gefärbten Präparaten zu Gesicht.

Pneumokokken (Fig. 14 u. 14 *a*).

Mikroskopische Untersuchung: Die Pneumokokken präsentieren sich gewöhnlich als Diplokokken, welche meist nach ihrer freien, seltener nach der einander zugekehrten Seite hin spitz ausgezogen sind, während der andere Pol abgerundet erscheint (lanzettförmig). Sie besitzen eine deutliche Kapsel und färben sich nach *Gram*. Häufig bilden sie kurze Ketten. Oft ist das Bild, welches die gefärbten Präparate darbieten, so charakteristisch, daß aus dem mikroskopischen Präparat die Diagnose „Pneumokokken" gestellt werden kann. In anderen Fällen jedoch müssen zu ihrer Identifizierung Züchtung und Tierversuch herangezogen werden.

Züchtung: Auf Glyzerinagar entwickeln sich die Pneumokokken zu kleinen, tautröpfchenähnlichen Kolonien; in Bouillon wachsen sie häufig in langen Ketten. Die Kapsel fehlt in der Regel bei Züchtung auf künstlichen Nährböden. Sie ist nur in den Präparaten, welche von Blutserumkulturen stammen, nicht selten nachweisbar.

Tierversuch: Die geeignetsten Versuchstiere sind Kaninchen und weiße Mäuse. Man injiziert von einer in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmten Sputumflocke einer Maus zirka 0·1, einem Kaninchen 0·5—1·0 cm^3 subkutan. Die Tiere gehen in 24—48 Stunden an Pneumokokken-Septikämie

zugrunde. Im Herzblut und den Organen sind zahlreiche Pneumokokken mit Kapseln nachweisbar. Mit Hilfe des Tierversuchs gelingt auch die Isolierung der Pneumokokken aus dem Sputum am leichtesten.

Streptokokken.

Mikroskopische Untersuchung: Die Streptokokken sind zu mehr oder weniger langen Ketten angeordnet, deren einzelne Glieder kugelige Gestalt besitzen. Nicht selten finden sie sich im Sputum in Diploform und erweisen sich dann erst durch das Kulturverfahren als Streptokokken. Der *Gram*schen Methode gegenüber verhalten sie sich positiv.

Züchtung: Auf Agar wachsen sie ziemlich langsam in sehr kleinen, zarten, durchsichtigen Kolonien. Bei schwacher Vergrößerung erscheint das Zentrum fein granuliert und dunkler als der Rand, welcher entweder glatt ist oder sich in Schlingen auflöst. In Präparaten, welche von Agarkulturen stammen, wird die Kettenbildung häufig vermißt. In Bouillon bilden sie meist einen flockigen Niederschlag, ohne dieselbe zu trüben und entwickeln sich dann zu langen Ketten (Streptoc. longus); in selteneren Fällen trüben sie die Bouillon diffus unter Bildung kurzer Ketten (Strept. brevis). Die Gelatine wird nicht verflüssigt.

Der Tierversuch ist als diagnostisches Hilfsmittel zu entbehren.

Staphylokokken.

Im Sputum finden sich gewöhnlich St. aureus oder albus, seltener St. citreus.

Mikroskopische Untersuchung: Sie stellen runde, meist traubenförmig angeordnete Kokken dar und sind nach *Gram* färbbar.

Züchtung. Auf Agar bilden sie große, runde, undurchsichtige, flach erhabene Kolonien von gelber (St. aureus), weißer (St. albus) oder zitronengelber (St. citreus) Farbe. Alle echten Staphylokokken verflüssigen die Gelatine, Bouillon wird gleichmäßig getrübt. Der Tierversuch braucht zur Diagnose nicht herangezogen zu werden.

Mikrokokkus tetragenus.

Mikrokokkus tetragenus findet sich im Sputum nur als Mischinfektionserreger bei Tuberkulose.

Mikroskopische Untersuchung: Er besteht aus rundlichen bis ovalen Kokken von wechselnder Größe, welche in Tetraden zusammenliegend von einer Kapsel umschlossen werden. Nach der *Gram*schen Methode verhält er sich positiv.

Züchtung: Auf Agar bildet er weiße, undurchsichtige, feucht glänzende Kolonien, welche, bei schwacher Vergrößerung betrachtet, am Rande die Form der Tetraden erkennen lassen. Auf der Gelatineplatte zeigen sich zuerst kleine weiße Pünktchen, welche bald an Umfang zunehmen und die Gelatine mit einem kappenförmigen, glänzenden, porzellanartigen Belag überziehen. Die Bouillon bleibt klar unter Bildung eines mäßigen Bodensatzes.

Tierversuch. Besonders empfänglich sind weiße Mäuse, welche einige Tage nach der Infektion an Septikämie zugrunde gehen.

Mikrokokkus catarrhalis (Fig. 15).

Mikrokokkus catarrhalis findet sich im Sputum als Erreger von Bronchitiden und Bronchopneumonien besonders bei Kindern, aber auch bei Erwachsenen, allein oder zusammen mit anderen Entzündungserregern, besonders Streptokokken und Influenzabazillen.

Mikroskopische Untersuchung: Er erscheint meist als Diplokokkus, häufig auch als Tetrakokkus und bildet niemals Ketten. Er hat in Form und Lagerung überaus große Ähnlichkeit mit dem Gonokokkus, den er jedoch an Größe übertrifft. Er liegt im akuten Stadium häufig extrazellulär, später vielfach innerhalb der Leukozyten in dichten Haufen um den Kern herum. Wie der Gonokokkus entfärbt er sich nach *Gram*.

Züchtung: Er gedeiht auf neutralem und schwach alkalischem Agar, üppiger auf Blutagar und Serumagar. Die Kolonien erscheinen nach 24stündigem Wachstum grauweiß, lackartig glänzend und flach erhaben. Sie sind von mörtelartiger Konsistenz. Bei schwacher Vergrößerung betrachtet, zeigen

sie gelbbraune Farbe, ungleichmäßige Körnung und einen stark unregelmäßigen, wie angefressen aussehenden Rand. Die Gelatine wird nicht verflüssigt. In der Bouillon bildet der Mikrokokkus catarrhalis einen Niederschlag, ohne dieselbe zu trüben. Nach einigen Tagen entsteht an der Oberfläche eine Kahmhaut.

Influenzabazillus (Fig. 16).

Mikroskopische Untersuchung: Influenzabazillen sind sehr kleine, ovoide Stäbchen, welche sich nach *Gram* entfärben. Sie liegen häufig intrazellulär und treten gewöhnlich in sehr großen Mengen im Sputum auf, so daß das Präparat aussieht, als wenn es mit ihnen beschüttet wäre. Im gefärbten Sputumpräparat gleichen sie in ihrem Aussehen den Pyocyaneusbazillen, von denen sie jedoch mit Hilfe des Kulturverfahrens leicht zu differenzieren sind (cf. B. pyocyan.).

Züchtung: Auf gewöhnlichem Agar kommen die Influenzabazillen nicht zur Entwicklung. Sie wachsen am besten auf Blutagar und in Blutbouillon und bilden auf ersterem glashelle, tautröpfchenähnliche Kolonien, welche keine Neigung zu konfluieren haben. Stehen sie dicht gedrängt, so fließen sie zu größeren Tröpfchen zusammen, jedoch sind auch dann die einzelnen Kolonien immer noch zu unterscheiden. In Blutbouillon bilden sie zarte, weiße Flöckchen.

Bei Züchtungsversuchen aus dem Sputum wird neben Blutagar zur Kontrolle auch gewöhnlicher Agar mit dem in Bouillon aufgeschwemmten Untersuchungsmaterial beschickt. Handelt es sich um Influenzabazillen, so muß auf Agar das Wachstum ausbleiben, während auf Blutagar die beschriebenen Kolonien zur Entwicklung kommen.

Tierversuch: Die Influenzabazillen lassen sich auf die gewöhnlichen Versuchstiere nicht übertragen.

Streptobazillen wurden als mischinfizierende Bakterien bei Tuberkulose gefunden. Sie gehören zur Gruppe der Influenzabazillen und verhalten sich kulturell wie diese, morphologisch unterscheiden sie sich durch ihre bedeutendere Größe und die Kapsel, welche sie umgibt.

Diplobazillus Friedländer (Pneumobazillus).

Mikroskopische Untersuchung: Die Pneumobazillen sind plumpe Stäbchen mit abgerundeten Enden von außerordentlicher Variabilität in Größe und Gestalt, oft kokkenähnlich. Sie liegen in Diploform und besitzen meist eine deutliche Kapsel, welche besonders in Krankheitsprodukten sichtbar ist. Nach *Gram* färben sie sich nicht.

Züchtung: Sie wachsen bei Zimmer- und Bruttemperatur auf den gewöhnlichen Nährböden und bilden entweder grauweiße, feuchtglänzende, schleimige oder mehr feste undurchsichtige Kolonien. Gelatine wird nicht verflüssigt und wird häufig nach längerem Stehen braun gefärbt. Traubenzucker wird vergoren, Milch nicht zur Gerinnung gebracht.

Tierversuch: Nach subkutaner oder interperitonealer Injektion gehen weiße Mäuse innerhalb 24—28 Stunden zugrunde. Im Blut und in den Organen sind zahlreiche Diplobazillen mit Kapsel nachweisbar.

Bacillus pyocyaneus.

Als Mischinfektionserreger bei Tuberkulose ist auch Bacillus pyocyaneus beschrieben worden. Das Sputum wird durch seine Pigmente blau bis blaugrün gefärbt und besitzt einen eigentümlichen aromatischen Geruch.

Mikroskopische Untersuchung: Es finden sich kleine, schlanke Stäbchen, welche sich nach *Gram* entfärben.

Züchtung: Auch auf Nährböden bildet der Bacillus pyocyaneus den Farbstoff, der sich dem ganzen Nährmittel mitteilt. Auf Agar entwickeln sich rundliche, glattrandige Kolonien, auf Gelatine erscheinen dieselben flach, unregelmäßig begrenzt und sind bald mit einem Verflüssigungshof umgeben. Bouillon wird stark getrübt, die Milch koaguliert und peptonisiert. Von den Influenzabazillen unterscheidet sich der Bacillus pyocyaneus durch die leichte Züchtbarkeit auf den gewöhnlichen Nährböden, die Farbstoffbildung und durch seine Beweglichkeit.

Tierversuch ist für diagnostische Zwecke entbehrlich.

Pestbazillen.

Pestbazillen finden sich im Auswurfe bei primärer Lungenpest, bei Pneumonie und terminalem Lungenödem schwerer Pest-Septikämien. Auch von Rekonvaleszenten von Pestpneumonie können virulente Pestbazillen expektoriert werden.

Mikroskopische Untersuchung: Die Pestbazillen sind im Sputum in Reinkultur oder sehr häufig auch zusammen mit anderen Bakterien namentlich Diplokokken und Streptokokken nachweisbar. Die Präparate werden am besten nach *Sobernheim* mit absolutem Alkohol fixiert, den man auf das Deckglas tropft, zirka 1 Minute einwirken läßt, dann anzündet und schnell auslöscht. Die Färbung wird mit verdünntem Borax-Methylenblau vorgenommen. Die Pestbazillen stellen kurze, ovale Stäbchen dar, die sich an den Polen intensiver als in der Mitte färben (Polfärbung). Ihre Form ist jedoch sehr wechselnd; es finden sich neben den typischen Stäbchen kurzovale (Kokkentypus) sowie lange Stäbchen (Stäbchentypus), ferner sehr häufig Involutionsformen in Gestalt unregelmäßig begrenzter Bläschen oder scheibenförmiger, oft hefenzellenähnlicher Gebilde, welche sich schlecht färben. Nach der *Gram*schen Methode verhalten sich Pestbazillen negativ.

Züchtung: Die Reaktion des Nährbodens muß neutral oder schwach alkalisch sein. Kulturen auf Agar werden bei 30° C, solche auf Gelatine bei 20—22° gehalten. Letztere ist besonders geeignet für Untersuchungen des Sputums und anderer Sekrete, welche neben den Pestbazillen noch andere Bakterien enthalten, da bei 22° die Pestbazillen sich noch gut entwickeln, während die anderen Bakterien zurückbleiben. Gelatineplatten werden in derselben Weise besät wie sonst Agarplatten, indem das Untersuchungsmaterial auf der Oberfläche der erstarrten Gelatine in dünner Schicht ausgebreitet wird. Auf der Agarplatte sind nach 24stündigem Wachstum kleine, tautröpfchenähnliche Kolonien sichtbar, nach 48 Stunden erscheinen die Kolonien durchsichtig, mit prominentem, dunkelgefärbtem, gekörntem Zentrum und breitem, zartem, gezacktem Rand. Auf trockenem, 3—4% Kochsalz enthaltendem Nährboden bilden die Pestbazillen die charakteristischen Involutions-

formen. Auf Gelatine, die nicht verflüssigt wird, entwickeln sich in 2—3 Tagen gelb gefärbte Kolonien, deren grob granuliertes Zentrum die Gelatineoberfläche überragt und von einem zarten, glashellen, am Rande ausgezackten Saum umgeben ist.

Charakteristisch ist die Stalaktitenbildung in ruhig stehenden Bouillonkulturen.

Tierversuch: Die geeignetsten Versuchstiere sind Ratten und Meerschweinchen. Bei den ersteren wird die Impfung subkutan, auf die unverletzte Bindehaut oder durch Verfütterung vorgenommen, bei den letzteren kutan durch Einreiben des Materials auf die rasierte Bauchhaut. Besonders die letztere Methode gibt bei der Sputumuntersuchung gute Resultate. Nach wenigen Tagen entsteht eine starke Schwellung der regionären Lymphdrüsen, und in 4—5 Tagen tritt der Tod ein. Aus den Bubonen kann schon 24—48 Stunden nach der Injektion Material zur Aussaat gewonnen werden. Die Identifizierung der gezüchteten Bakterien geschieht durch die Agglutinationsprobe.

Mitunter werden bei Bronchitiden und Pneumonien im Verlaufe des Typhus Typhusbazillen im Sputum angetroffen. In den Fällen, in welchen der Nachweis gelang, fanden sie sich entweder allein oder zusammen mit Streptokokken, Diplokokken und Influenzabazillen. Milzbrandbazillen erscheinen im Auswurf bei Lungenmilzbrand (Hadernkrankheit), Bakterium coli ist in Begleitung von Pneumokokken besonders bei Lungenentzündungen im Säuglingsalter nachgewiesen worden. Die Identifizierung dieser Bakterien geschieht nach den an anderen Stellen angegebenen Methoden.

Eine reiche Bakterienflora zeigt das Sputum, welches bereits in zersetztem Zustande entleert wird, wie es bei Lungengangrän, Bronchiektasie und putrider Bronchitis der Fall ist. Neben den eigentlichen Entzündungserregern finden sich Bac. fusiformis, proteus, Bac. pyocyaneus, Pseudodiphtheriebazillen, mitunter säurefeste Stäbchen etc.

Das Sputum, welches bei durchgebrochenem Empyem entleert wird, enthält neben anderen Mikroorganismen gewöhnlich auch anaerob wachsende Bakterien.

V. KAPITEL.

Die Untersuchung des Mageninhalts.

Allgemeine Eigenschaften.

a) **Menge.** Einen annähernden und für die Praxis vollkommen genügenden Begriff über die Menge des Mageninhaltes gibt das Filtrat des genau eine Stunde nach dem *Ewald*schen Probefrühstück (35—70 *g* Weißbrot und eine Tasse Tee) entnommenen Mageninhalts. Dasselbe beträgt in der Norm nach *Boas* 20—25 cm^3.

Eine genauere Bestimmung des Gesamtmageninhalts wird nach *Strauss* folgenderweise ausgeführt:

Man extrahiert zuerst einen Teil des Mageninhaltes und bestimmt die Menge und das spezifische Gewicht desselben. Sodann bringt man eine bestimmte Menge Wasser in den Magen, läßt es mit dem Mageninhalt mischen, hebert, so viel man kann, heraus und bestimmt das spezifische Gewicht des verdünnten Mageninhalts. Die gesuchte Zahl ergibt sich aus der Formel

$$\chi = \frac{V.\,S. + (a - V)\,S' - a}{S - S'},$$

in welcher S das spezifische Gewicht des unverdünnten, S' das spezifische Gewicht des verdünnten Inhaltes, V die Menge des ausgeheberten verdünnten Inhalts und a die Menge des zugesetzten Wassers ist.

b) **Der Geruch** des Mageninhalts ist in der Norm indifferent. Auch unter pathologischen Verhältnissen, wenn der Magen vor Einnahme des Probefrühstücks vollkommen leer war, kann ein mehr oder weniger ausgesprochener Geruch fehlen. Bei stark ausgesprochener Gastrektasie ist sehr oft ein stark stechender Geruch nach flüchtigen Fettsäuren (Buttersäure, Valeriansäure) bemerklich. Bei Zerfall eines ausgedehnten Magenkarzinoms findet sich ein aashafter, bei Ileus ein fäkulenter Geruch.

c) **Farbe.** Der reine Magensaft sowie der Mageninhalt nach dem Probefrühstück sind normalerweise farblos. Häufig

verleihen geringe Beimischungen von Galle demselben eine gelbe resp. grünliche Farbe. Bei größerem Gallenfarbstoffgehalt bekommt der Mageninhalt eine grasgrüne Farbe (durch längeres Verweilen des Bilirubins im Magen wird es in Biliverdin umgewandelt).

Die Veränderung der Farbe in pathologischen Fällen wird am häufigsten durch Blutbeimischung verursacht. Kleine Blutstreifen an der Oberfläche des Mageninhaltes haben keine besondere Bedeutung, da sie in der Regel von den Würgbewegungen herrühren. Eine blutige Färbung des gesamten Inhalts beweist das Vorhandensein einer ernsten Krankheit und muß den Arzt veranlassen, von jeder weiteren Sondierung abzusehen.

d) **Konsistenz.** Der Mageninhalt nach dem Probefrühstück ist gewöhnlich von dünnbreiiger Beschaffenheit. Durch Beimischung von größeren Mengen Schleim bekommt er eine schleimige Konsistenz.

Die Inspektion des Mageninhalts unterrichtet über den Grad der Einwirkung der Verdauungssäfte. Man unterscheidet: absolut unverdauten, teilweise und gutverdauten Mageninhalt. Beim Fehlen jeder Verdauungstätigkeit gleicht der Mageninhalt der ursprünglichen, in Wasser gelegenen Mahlzeit. Bei teilweise verdautem Mageninhalt sind mehr oder weniger unverdaute Speisereste sichtbar. Zuweilen kann man eine Bildung von drei Schichten im Gefäße bemerken. Die oberste Schicht besteht in solchen Fällen gewöhnlich aus Schleim oder gröberen Speiseresten (meist unverdauten), die mittlere — größte Schicht — aus Flüssigkeit, die untere enthält den Chymus.

Die qualitative chemische Untersuchung.

1. **Reaktion.** Die Reaktion des Mageninhaltes wird in üblicher Weise mittelst Lackmuspapier bestimmt. Sie kann sauer, neutral, amphoter oder alkalisch sein.

In dem größten Teile der normalen und pathologischen Fälle reagiert der Mageninhalt sauer. Eine neutrale oder alkalische Reaktion findet sich unter folgenden Umständen:

1. Nach der Einnahme von alkalischen Medikamenten (kohlensaurem Natron, alkalischen Mineralwässern); 2. bei gewissen pathologischen Zuständen (chronischer Gastritis, Karzinom, Neurosen); 3. starke Beimengungen von Galle oder Blut sind gleichfalls imstande, die Säuren des Mageninhalts zu neutralisieren und sogar eine alkalische Reaktion hervorzurufen.

2. **Freie Säuren.** Ist die saure Reaktion des Mageninhalts festgestellt, so geht man zum Nachweis der Anwesenheit der freien Säuren über (da die saure Reaktion bei vollkommenem Fehlen von Säuren vorhanden sein kann; in solchen Fällen wird sie durch die sauren Phosphate hervorgerufen). Die empfindlichste Probe auf freie Säuren stellt die Reaktion mit Kongorot dar.

Kongorot wird durch freie Säure, nicht aber durch sauer reagierende Salze gebläut. Salzsäure von 0·05% an und darüber färbt dunkelblau, geringere Konzentrationen geben schwach blaue oder violette Färbung. Organische Säuren unter 0·5% geben eine verwaschene violette Färbung, höhere Konzentrationen färben dunkelblau. Da aber die organischen Säuren in Konzentrationen über 0·5% im Mageninhalte nicht vorkommen, so kann diese Probe als vorläufige, orientierende Reaktion auf Salzsäure dienen.

Zur Ausführung der Probe bedient man sich einer frisch bereiteten Lösung des Farbstoffs oder eines Papiers, welches nach Art der Reagenspapiere mit Kongorot gefärbt ist. Nach *Leo* und *Boas* ist die Lösung zehnmal empfindlicher als das Reagenspapier. Da aber die Lösung jedesmal frisch bereitet werden muß, was für alltäglichen praktischen Gebrauch zu umständlich ist, so wird doch die Probe gewöhnlich mit Reagenspapier, welches sich gut konservieren läßt, ausgeführt. Man läßt einen Tropfen der Magenflüssigkeit auf das Papier fallen. Erhält man auf der getroffenen Stelle einen intensiv dunkelblauen Fleck, dann ist freie Salzsäure vorhanden. Ist die Färbung nur schwach blau oder violett oder färbt sich auch nur der Rand des Tropfens, so ist freie Säure vorhanden. Über die Natur derselben muß die weitere Untersuchung entscheiden.

Die anderen Proben auf freie Säuren werden gleichzeitig auch als Reaktion auf freie Salzsäure benutzt und werden darum bei der letzteren erwähnt.

3. **Freie Salzsäure.** Der Begriff „freie Salzsäure“ wird gewöhnlich dem Begriff „gebundene Salzsäure“ entgegengesetzt. Unter freier Salzsäure versteht man solche Säure, welche durch die speziellen Reaktionen nachgewiesen werden kann. Die (meist an Eiweißstoffe) gebundene Salzsäure bleibt zwar für diese Reaktionen latent, besitzt jedoch für die Verdauung einen gewissen Wert, da sie eine Verbindung mit Pepsin bildet und auf diese Weise eine Verdauung ohne freie Säure zustande bringen kann. Jedenfalls ist diese Verdauung sehr geringfügig im Vergleich zu der Verdauung bei Gegenwart von freier Säure. Über die Bestimmung der gebundenen Salzsäure conf. quantitative chemische Untersuchung des Mageninhalts.

Die Reaktionen auf freie Salzsäure können in zwei Gruppen geteilt werden:

I. Reaktionen, welche nur für Salzsäure charakteristisch sind.

II. Reaktionen, welche überhaupt freie Säure nachweisen, bei der Untersuchung des Mageninhalts jedoch als Reaktionen auf freie Salzsäure benutzt werden.

Zur ersten Gruppe gehört:

Die *Günsburg*sche Reaktion mit Phlorogluzin-Vanillin.

Das Reagens besteht aus:

Phlorogluzin	2·0
Vanillin	1·0
Alkohol absol.	30·0

Man bringt drei Tropfen des Reagens und ebenso viele des filtrierten Mageninhalts in ein Porzellanschälchen und mischt innig durch; dann wird die Flüssigkeit vorsichtig über einer kleinen Flamme erwärmt (ohne den Siedepunkt zu erreichen), bis alles verdampft ist. Es bildet sich besonders am Rande ein schön karmoisinroter Spiegel. Der Spiegel entsteht noch bei einer Verdünnung von 0·01% HCl. Bei einer Verdünnung von 0·005% erhält man nur noch feine rote Striche. Organische Säuren verhalten sich in stärksten Konzentrationen dieser Reaktion gegenüber vollkommen negativ. Da diese Reaktion außerdem noch sehr empfindlich ist, so wird sie als die *sicherste* und *zuverlässigste* Reaktion zum Nachweis freier Salzsäure allgemein anerkannt.

Nach *Boas* kann die Reaktion auch mit einem mit dem Reagens imprägnierten Streifen Filtrierpapier ausgeführt werden. Wird ein solches Reagenspapier mit 2—3 Tropfen Mageninhalt betupft und vorsichtig über der Flamme erwärmt, so entsteht ein karmoisinroter Fleck, welcher bei Ätherzusatz unverändert bleibt.

Es ist zu bemerken, daß das *Günsburg*sche Reagens sich bei längerem Aufbewahren leicht zersetzt, es empfiehlt sich daher, bei der Ausführung der Reaktion die Brauchbarkeit der Lösung stets mit stark verdünnter Salzsäure zu kontrollieren.

Von den Reaktionen der zweiten Gruppe sind zu empfehlen:

a) Die Probe mit Methylviolett. Eine violett gefärbte Lösung dieses Farbstoffes wird bei Zusatz von schwacher Salzsäure (unter 0·5%) blau gefärbt. Organische Säuren verändern die Farbe der Lösung erst bei höheren Konzentrationen (über 0·5%).

Ausführung der Probe: 5—10 cm^3 Wasser versetzt man in einem Reagensglas mit 2—3 Tropfen einer konzentrierten wässrigen Methylviolettlösung, wobei das Wasser eine deutlich violette Färbung annehmen muß. In einer anderen Eprouvette wird zu 5—10 cm^3 Mageninhalt ebensoviel von der Farbstofflösung zugegeben, wie vorher bei der Wasserlösung. Man vergleicht beide Lösungen. Erscheint die Mageninhaltlösung blau, so ist freie Salzsäure vorhanden.

b) Die Probe mit Dimethylamidoazobenzol. Als Reagens wird eine 0·5%ige alkoholische Lösung des Farbstoffs benutzt. Die orangegelbe Lösung wird durch Salzsäure intensiv rot gefärbt.

Ausführung der Probe: 3—5 cm^3 des filtrierten Mageninhalts werden mit drei Tropfen der Lösung versetzt. Schon bei Anwesenheit von Spuren freier Salzsäure (0·002%) entsteht eine feurigrote Färbung. Organische Säuren geben die Reaktion erst in Konzentrationen über 0·5% und dann nur bei Anwesenheit von Eiweiß, Pepton und Mucin. Auch locker gebundene Salzsäure gibt die Reaktion nicht (s. u.).

Diese Farbstoffproben sind zwar mehr oder weniger empfindlich, ergeben jedoch keine unbedingt zuverlässigen Resultate und bei geringen Mengen Salzsäure ist letztere sehr schwer mittelst dieser Proben von organischen Säuren zu unterscheiden.

4. **Milchsäure.** Von den zwei Arten der Milchsäure, der Gärungsmilchsäure (optisch inaktiv) und der Fleischmilchsäure (optisch aktiv), kommt bei der Untersuchung des Mageninhalts nur die erstere in Betracht. Sie bildet sich als Produkt der Gärung aus Kohlehydraten unter der Einwirkung von Spaltpilzen (Bacterium acidi lactici).

Sie wird durch folgende Reaktionen nachgewiesen:

Die einfache Eisenchloridprobe. 50 cm^3 Wasser versetzt man mit einem Tropfen Liquor ferri sesquichlorati. Das Wasser färbt sich kaum merkbar gelb. Wenn man zu einigen Kubikzentimetern dieser Lösung eine gleiche Menge einer ganz schwachen Milchsäurelösung (von 0·01% an) hinzufügt, wird die Flüssigkeit sofort deutlich zeisiggelb. Essigsäure, Buttersäure und Salzsäure in Konzentrationen unter 0·3% lassen die Flüssigkeit unverändert. Auf demselben Prinzip beruht auch die

*Uffelmann*sche Eisenchlorid-Karbolreaktion. Eine Mischung von 10 cm^3 4%iger Karbolsäure, 20 cm^3 Wasser und einem Tropfen Eisenchloridlösung hat eine amethystblaue Farbe. Das Gemisch muß stets frisch bereitet werden, denn die Farbe verändert sich schon nach einigen Minuten und die Lösung nimmt eine fahlgraue Farbe an. Versetzt man diese Lösung mit einem gleichen Volumen einer Milchsäurelösung (von 0·01% an), so färbt sich das Gemisch sofort zeisig- oder zitronengelb.

Da auch andere im Mageninhalte vorkommende Säuren (Ameisensäure, Essigsäure) sowie Traubenzucker, Alkohol- und Peptonlösungen eine ähnliche Reaktion geben, so ist die Eisenchloridreaktion bei direkter Anstellung im Mageninhalt ungenau. Es sind darum verschiedene Modifikationen, welche diese Fehlerquellen beseitigen sollen, vorgeschlagen. Am brauchbarsten sind folgende:

a) Modifikation nach *Kelling*. Der Einfluß der die Reaktion störenden Substanzen wird bei dieser Modifikation durch starke Verdünnung mit destilliertem Wasser beseitigt. Ausführung: Das Filtrat des Mageninhalts wird auf das 10—20fache verdünnt und mit 1—2 Tropfen einer 5%igen Eisenchloridlösung versetzt. Bei Anwesenheit von Milchsäure

entsteht eine in durchfallendem Lichte wahrnehmbare grünliche Färbung. Die Probe beruht auf der Tatsache, daß Milchsäure noch in einer Verdünnung von 1 : 10.000 im durchfallenden Lichte mit einer Eisenchloridlösung eine grünliche Färbung erzeugt.

b) Modifikation nach *H. Strauss.* 5 cm^3 des Mageninhalts werden mit 20 cm^3 alkoholfreiem Äther geschüttelt. Nach dem Absetzen wird ein Teil (5 cm^3) des Äthers abgegossen, mit einer 4fachen Menge Wasser verdünnt und mit 2 Tropfen einer Eisenchloridlösung (1 : 9) kräftig umgeschüttelt. Es tritt dann bei etwa 1 ‰ Milchsäuregehalt eine intensiv grüne, bei einem geringeren Gehalt eine schwach grüne Färbung auf.

5. **Flüchtige Fettsäuren.** Von den flüchtigen Fettsäuren kommen bei der Mageninhaltsuntersuchung hauptsächlich Essigsäure und Buttersäure in Betracht. Sie werden entweder mit der Nahrung eingeführt oder bilden sich als Produkte einer anormalen Kohlehydratgärung; nur im letzteren Falle haben sie eine diagnostische Bedeutung.

Zur vorläufigen Orientierung über die Anwesenheit von flüchtigen Fettsäuren kann man sich der folgenden einfachen und für praktische Zwecke genügenden Probe bedienen: Man erwärmt zirka 10 cm^3 des zu untersuchenden Mageninhalts in einem Reagenzglas, an dessen Ende sich ein kleiner Streifen feuchten, blauen Lackmuspapiers befindet. Sind flüchtige Säuren vorhanden, so färbt sich das Lackmuspapier rot *(Leo).*

Ein genauerer Nachweis geschieht auf folgendem Wege: 15 bis 20 cm^3 Mageninhalt werden mit einem Gramm Natriumsulfat versetzt und 2—3mal mit je 50 cm^3 Äther ausgeschüttelt; der Äther wird abgegossen und durch Destillieren verjagt; es hinterbleibt ein flüssiger Rückstand, welcher bei Anwesenheit von organischen Säuren deutlich sauer reagiert und einen charakteristischen Geruch besitzt. Dieser Rückstand wird in zwei gleiche Portionen geteilt, mit welchen spezielle Reaktionen auf Essigsäure und Buttersäure ausgeführt werden.

a) Nachweis der Essigsäure. Die Flüssigkeit wird mit Wasser aufgenommen, mit einer verdünnten Sodalösung

genau neutralisiert und mit einem Tropfen Eisenchlorid versetzt. Bei Anwesenheit von Essigsäure färbt sich die Flüssigkeit blutrot und gibt beim Kochen einen braunroten Niederschlag von basisch-essigsaurem Eisenoxyd.

Ameisensäure gibt zwar auch dieselbe Reaktion, aber für diagnostische Zwecke wird dadurch die Bedeutung des positiven Resultats der Reaktion nicht geändert, denn die Ameisensäure kann im Mageninhalte nur als Produkt der ablaufenden sauren Gärung vorkommen.

b) Zum Nachweis der Buttersäure wird die zweite Portion des Ätherrückstandes in 2—3 Tropfen Wasser gelöst und mit einem ganz kleinen Stückchen Chlorkalzium versetzt. Die Buttersäure scheidet sich dabei (infolge ihrer Unlöslichkeit in Salzlösungen) in kleinen, auf der Oberfläche schwimmenden Tropfen ab, die den spezifischen Geruch der Buttersäure erkennen lassen.

6. **Pepsin und Pepsinogen.** Das eiweißverdauende Ferment des Magensaftes Pepsin entsteht aus dem Pepsinogen, dem spezifischen Produkte der Hauptzellen der Magendrüsen, durch die Einwirkung von Säuren. Besonders schnell geschieht die Umwandlung des Pepsinogens in aktives Pepsin durch die Einwirkung der Salzsäure.

Auf dieser Tatsache beruht der Nachweis des Pepsins und seiner Vorstufe im Mageninhalte. Wenn ein Mageninhalt freie Säuren enthält und gleichzeitig Eiweißstoffe verdaut, so ist damit der Beweis des Vorhandenseins von Pepsin geliefert. Enthält der Magensaft keine freie Säure, so kann in diesem Falle nur Pepsinogen vorhanden sein. Ein derartiger Mageninhalt muß eiweißverdauende Eigenschaften nach Zusatz genügender Menge Salzsäure erhalten. Ist es nicht der Fall, so ist auch Pepsinogen nicht vorhanden.

Ausführung der Verdauungsprobe (nach *Mett-Strauss)*. Man filtriert Hühnereiweiß durch ein Stückchen Verbandgaze in ein kleines Becherglas oder weites Reagenzglas durch und läßt Glasröhrchen von etwa 2 *mm* Lichtweite langsam in das Eiweiß hineingleiten. Luftblasen, welche in den Glasröhrchen aufsteigen, läßt man entweichen, wobei man das Aufsteigen der Luftbläschen durch gelindes Klopfen zu befördern sucht. Dann setzt man das Gefäß mit Röhrchen in ein kochendes Wasserbad und läßt 5—10 Minuten kochen.

Hierauf entfernt man die Flamme und überläßt das Glas auf mehrere Stunden einer langsamen Abkühlung. Nun zerbricht man das Reagenzglas, schneidet die Röhrchen mit dem geronnenen Eiweiß aus und bewahrt sie entweder in Glyzerin oder in Chloroformwasser auf.

Für jede Probe wird ein Röhrchen benutzt. Es wird zunächst mit Wasser abgewaschen, dann in ein Reagenzglas mit 10 cm^3 des filtrierten Mageninhalts gebracht und auf 24 Stunden in den Brutschrank gestellt. Ist durch die chemische Untersuchung das Fehlen von Salzsäure nachgewiesen, so werden 1—2 Tropfen offizineller Salzsäure zugesetzt. Ist Pepsin vorhanden, so wird nach 24 Stunden ein Teil des Eiweißes verdaut sein. Dieselbe Probe dient gleichzeitig zur quantitativen Bestimmung des Pepsins. Die Länge der verdauten Eiweißsäule (in Millimetern) ist der Pepsinmenge proportional.

7. **Labferment und Labzymogen.** Das Labzymogen ist ebenso wie das Pepsinogen ein Produkt der Magendrüsen, welches durch die Einwirkung der Salzsäure in Labferment verwandelt wird. Das Labferment besitzt die Eigenschaft, unabhängig von der Magensäure Milch zur Gerinnung zu bringen, und zwar bei schwach saurer und neutraler Reaktion. Bei schwach alkalischer Reaktion bleibt die Fermentwirkung aus, entsteht aber wieder nach Zusatz von Kalksalzlösungen. Die Wirkung der Kalksalze erklärt sich dadurch, daß sie das Labzymogen in Labferment überführen.

Nachweis des Labferments: 10 cm^3 filtrierten Mageninhalts werden mit schwacher Natronlauge (0·5%) genau neutralisiert und mit einer gleichen Menge abgekochter Milch von neutraler oder amphoterer Reaktion versetzt. Das Gemisch wird in den Brutschrank gebracht. Bei Gegenwart von Labferment erfolgt innerhalb 10—30 Minuten Gerinnung des Kaseins und bei weiterem Stehen Bildung eines einzigen Koagulums (Käse). Man muß sich jedesmal überzeugen, daß die Reaktion des Gemisches nach der Gerinnung unverändert geblieben ist, da das Kasein auch durch nachträglich gebildete Säure zur Gerinnung gebracht sein könnte.

Nachweis des Labzymogens: 2 cm^3 des filtrierten Mageninhalts werden im Überschuß mit kohlensaurem Natron,

2 *cm*³ 3%iger Chlorkalziumlösung und 10 *cm*³ Milch versetzt und in den Brutschrank gestellt; bei Anwesenheit von Labzymogen tritt allmählich Gerinnung ein.

Nachweis der pathologischen und abnormen Bestandteile des Mageninhalts.

1. **Schleim.** Schon bei der makroskopischen Untersuchung des Mageninhalts sind Beimischungen von größeren Mengen Schleim leicht erkennbar. Um kleinere Mengen Schleim nachzuweisen, muß mit dem Filtrate des Mageninhalts eine Mucinprobe ausgeführt werden.

Man versetzt in einem Reagenzglas verdünnte Essigsäure mit einigen Tropfen des Filtrats des Mageninhalts. Bei Anwesenheit von Schleim bildet sich je nach der Menge desselben eine Trübung oder ein fadenziehender, allmählich zu Boden sinkender Niederschlag.

2. **Gallenfarbstoff.** Zum Nachweis des Gallenfarbstoffs bedient man sich der *Gmelin*schen oder *Rosin*schen Probe. (Über die Ausführung derselben s. im Abschnitt „Harnuntersuchung".)

3. **Blut.** Das Blut kann im Mageninhalte auf chemischem, mikrochemischem, mikroskopischem und spektroskopischem Wege nachgewiesen werden. Von den chemischen Reaktionen sind die einfachsten:

a) die *Heller*sche Probe. Gleiche Mengen eines normalen Urins und filtrierten Mageninhalts werden mit 5 bis 10 Tropfen einer 10%igen Natronlauge (bis zur stark alkalischen Reaktion) versetzt und bis zum Kochen erhitzt. Bei Anwesenheit von Blut färben sich die niedergerissenen Phosphate rot. Enthält der Mageninhalt solche Substanzen, welche die Farbe des Niederschlages nicht erkennen lassen, so sammelt man den Niederschlag auf einem kleinen Filter und löst ihn in Essigsäure auf, wobei die essigsaure Lösung, falls Blutfarbstoff vorhanden ist, rote Farbe annimmt.

b) Guajakprobe nach *Weber*. Man versetzt den zu untersuchenden Mageninhalt (10—20 Ccm.) mit einigen Kubikzentimetern Eisessig und schüttelt mit Äther aus. Nach dem

Absetzen werden einige Kubikzentimeter des Ätherextraktes abgegossen und mit 10 Tropfen Guajaktinktur und 20 Tropfen harzigem Terpentin gemischt. Die Flüssigkeit färbt sich bei Anwesenheit von Blut blauviolett; ist Blutfarbstoff nicht vorhanden, so entsteht eine rotbraune Färbung. Der blaue Farbstoff kann nach Verdünnung mit Wasser durch Chloroform aufgenommen werden.

c) Mikrochemisch wird Blutfarbstoff durch die *Teichmann*sche Häminprobe nachgewiesen.

Man entnimmt eine kleine Probe von dem Filterrückstand und läßt sie auf einem Objektträger an der Luft oder vorsichtig über kleiner Flamme eintrocknen, gibt eine Spur Kochsalz zu und bedeckt mit einem Deckglas. Zwischen Objektträger und Deckglas läßt man Eisessig zufließen und erwärmt

Fig. 17.

*Teichmann*sche Häminkristalle. Nach *v. Jaksch.*

vorsichtig über kleiner Flamme solange, bis die ganze Essigsäure verjagt ist. Nach dem Erkalten findet man bei mikroskopischer Untersuchung schwarzbraune, rhombische Häminkristalle. (Chlorhämatin, Fig. 17.)

Die spektroskopische Untersuchung wird ebenso wie bei der Untersuchung des Harns (conf. daselbst) vorgenommen. Enthält der Mageninhalt freie HCl und große Mengen organischer Säuren, so wird das Oxyhämoglobin in salzsaures Hämatin umgewandelt. Letzteres ist nur sehr schwer in Wasser löslich, und daher kann unter diesen Umständen die spektroskopische Untersuchung sogar bei Anwesenheit größerer Blutmengen ein negatives Resultat ergeben. Es empfiehlt sich in

solchen Fällen, nach *Weber* den Mageninhalt mit einigen Kubikzentimetern konzentrierter Essigsäure zu versetzen und mit Äther auszuschütteln. Der Mageninhalt wird bei Anwesenheit von Blut rotbraun gefärbt und zeigt das Spektrum des salzsauren Hämatins.

4. **Schwefelwasserstoff** wird leicht durch seinen spezifischen Geruch erkannt. Außerdem kann er durch folgende einfache Probe nachgewiesen werden:

Ein mit alkalischer Bleizuckerlösung getränkter Papierstreifen wird in einen Kork eingeklemmt. Mit demselben wird das den Mageninhalt enthaltende Gefäß gut verschlossen, so daß der Papierstreifen sich innerhalb des Gefäßes befindet. Falls Schwefelwasserstoff vorhanden ist, wird das Papier geschwärzt.

Die quantitative chemische Untersuchung des Mageninhalts.

1. **Bestimmung der Gesamtazidität.** Bei der Bestimmung der gesamten Azidität kommen alle sauer reagierenden Substanzen des Mageninhalts in Betracht, d. h.:

a) freie und gebundene Salzsäure;

b) freie und gebundene organische Säuren (Milch-, Butter- und Essigsäure);

c) saure phosphorsaure Salze.

Als Maß der Azidität wird jene Menge einer Zehntelnormallauge angenommen, welche man zu 100 cm^3 des Mageninhalts zufügen muß, um denselben zu neutralisieren.

Ausführung: 10 cm^3 des filtrierten Mageninhalts werden in einem kleinen Glaskölbchen mit 1—2 Tropfen einer alkoholischen Phenolphthaleinlösung versetzt. Aus einer *Mohr*schen Bürette läßt man unter gutem Umschütteln solange Zehntelnormallauge zufließen, bis die Flüssigkeit deutlich rötlich gefärbt bleibt. Der Stand der Flüssigkeit in der Bürette wird vor und nach der Titrierung abgelesen und notiert, durch Subtraktion die Menge der verbrauchten Zehntelnormallauge berechnet und mit 10 multipliziert.

2. Bestimmung der freien Salzsäure.

a) Nach *Minz*. Die Methode beruht darauf, daß man den Mageninhalt solange mit Zehntelnormallauge versetzt, bis eben die Reaktion auf freie Salzsäure verschwindet.

Ausführung: 10 cm^3 des filtrierten Mageninhalts werden in einem Glaskölbchen mit Zehntelnormallauge titriert. Die Normallauge wird zuerst kubikzentimeterweise zugegossen und nach Zusatz von jedem Kubikzentimeter mit einem Tropfen der Flüssigkeit die *Günzburg*sche Reaktion ausgeführt. Die Titration wird auf diese Weise bis zum vollkommenen Verschwinden der *Günzburg*schen Reaktion fortgesetzt. Die so erhaltene annähernde Zahl der zur Neutralisierung der freien Salzsäure erforderlichen Zehntelnormallauge wird alsdann genauer bestimmt, indem man andere 10 cm^3 des Mageninhalts aus der Bürette mit einer Menge Zehntelnormallauge, welche um 1 cm^3 geringer als die vorhergefundene ist, versetzt und dann tropfenweise die Titrationsflüssigkeit zugießt. Nach jedem zweiten Tropfen wird die *Günzburg*sche Reaktion ausgeführt.

Findet man z. B., daß die Reaktion bei Hinzufügung von 2·5 cm^3 noch positiv ausfällt, während sie bei 2·6 cm^3 ausbleibt, so beträgt die freie Säure $2{\cdot}6 \times 10 = 26$ cm^3 Zehntelnormallauge (auf 100 cm^3 des Mageninhalts berechnet). Jeder Kubikzentimeter der Zehntelnormallauge entspricht 0·00365 *g* Salzsäure, so daß der Prozentgehalt in diesem Falle $0{\cdot}00365 \times 26 = 0{\cdot}0949\%$ beträgt.

Diese Methode gibt zuverlässige und für die Praxis vollkommen brauchbare Resultate.

b) Nach *Töpfer*. Die freie Salzsäure wird bei dieser Methode mittelst 0·5%iger alkoholischer Lösung von Dimethylamidoazobenzol als Indikator bestimmt.

Ausführung: 10 cm^3 des Magenfiltrats werden mit 2 bis 3 Tropfen der Dimethylamidoazobenzollösung versetzt. Der hellrot gewordenen Flüssigkeit wird aus der Bürette so lange Zehntelnormallauge zugesetzt, bis die rote Färbung der Flüssigkeit vollkommen verschwindet und der ursprünglichen gelben Farbe Platz macht.

Die Methode gibt nur in solchen Fällen ziemlich zuverlässige Resultate, wo größere Mengen Salzsäure und ganz geringe Mengen organischer Säuren vorhanden sind. Bei umgekehrtem Verhältnis gibt sie bedeutende Fehler, da die organischen Säuren mitgerechnet werden.

3. **Bestimmung der Gesamtsalzsäure.** Nach *Töpfer.* Die Menge der Gesamtsalzsäure wird aus ihren Komponenten, der freien und gebundenen Salzsäure, berechnet.

Die freie Salzsäure wird dabei nach der oben geschilderten Methode durch Titrierung mit Dimethylamidoazobenzol ermittelt, die gebundene folgenderweise bestimmt:

Man titriert 10 cm^3 des Magenfiltrats unter Zusatz von 3—4 Tropfen einer 1%igen wässerigen Lösung von alizarinsulfonsaurem Natron mit Zehntelnormallauge, bis die ursprünglich gelbe Flüssigkeit durch Rot in reines Violett übergegangen ist.

Da das Alizarin für alle Aziditätsfaktoren mit Ausnahme der gebundenen Salzsäure empfindlich ist, so erhält man durch Subtraktion der auf diese Weise gefundenen Azidität von der Gesamtazidität die Zahl für gebundene Salzsäure.

Beispiel: Bei der Titrierung von 10 cm^3 Magenfiltrat mit alizarinsulfonsaurem Natron wurden 4·5 cm^3 Zehntelnormallauge verbraucht, also 45·0 cm^3 auf 100. Die Gesamtazidität wurde vorher bestimmt und beträgt 50·0 cm^3 Zehntelnatronlauge. Die Azidität für gebundene Salzsäure ist also $50—45 = 5·0$. Multipliziert man diese Zahl mit 0·00365, so erhält man den Prozentgehalt der gebundenen HCl; $5 \times 0·00365 = 0·018\%$. Angenommen, daß die Menge der freien Salzsäure (bestimmt durch Titrierung mit Dimethylamidoazobenzol) 0·15% beträgt, so ist der Gehalt an Gesamtsalzsäure $0·15 + 0·018 = 0·168\%$. Durch Subtraktion der Azidität für freie und gebundene Salzsäure von der Gesamtazidität läßt sich die Azidität der organischen Säuren und sauren Phosphate bestimmen.

4. **Bestimmung der Milchsäure.** Nach *Leo.* 10 cm^3 des filtrierten Mageninhalts werden solange zum Sieden erhitzt, bis ein angefeuchtetes blaues Lackmuspapierchen von den entweichenden Dämpfen nicht mehr gerötet wird. Die

auf diese Weise von flüchtigen Säuren befreite Flüssigkeit wird alsdann mit je 50 cm^3 Äther sechsmal extrahiert, die Ätherextrakte werden zusammengegossen und der Äther abdestilliert oder auf dem Wasserbade verdampft. Der Rückstand wird mit einer geringen Menge Wasser aufgenommen und mit Zehntelnormallauge unter Zusatz von 2—3 Tropfen Phenolphthalein titriert. Jedes Kubikzentimeter der verbrauchten Zehntelnormallauge entspricht 0·009 *g* Milchsäure.

Nach *Mehring* und *Cahn* kann man in derselben Portion des Mageninhalts die Milchsäure und flüchtigen Fettsäuren bestimmen: Eine abgemessene Menge des filtrierten Mageninhalts wird destilliert. Die in das Destillat übergegangenen flüchtigen Säuren werden durch Titration bestimmt, während der Destillationsrückstand wiederholt mit Äther ausgeschüttelt und in den vereinigten Ätherextrakten die Milchsäure ebenso wie bei der Methode von *Leo* bestimmt wird.

Die mikroskopische Untersuchung des Mageninhalts.

Zum Zwecke der mikroskopischen Untersuchung läßt man den Mageninhalt absetzen, entnimmt mit einer Pipette eine geringe Menge des Bodensatzes und verfertigt Präparate in üblicher Weise.

Das mikroskopische Bild des ausgeheberten Mageninhalts oder des Erbrochenen ist unter physiologischen Verhältnissen von der Art der eingeführten Speisen abhängig. Gewöhnlich findet man:

1. viele Amylumkörperchen mit charakteristischer, konzentrischer Schichtung, welche sich größtenteils bei Zusatz von Jodjodkali intensiv blau färben. Nur bei Säureabwesenheit findet man fast gar keine Amylumkörperchen mit deutlicher Struktur und keine Blaufärbung nach Zusatz von Jodjodkali.

2. Fetttropfen und Fettsäurenadeln. Besonders viel Fetttropfen findet man nach Einführung von Milch.

3. Muskelfasern findet man je nach dem Stadium der Verdauung in verändertem oder vollkommen strukturlosem Zustande. Die Anwesenheit zahlreicher Muskelfasern, welche ihre

Querstreifung erhalten haben, einige Stunden nach der Verdauung spricht für ungenügende peptische Eigenschaften des Magensaftes.

4. Epithelien der Mundhöhle, des Rachens, einzelne Epithelien der Magenschleimhaut, einzelne Leukozyten und sogenannte Schneckenzellen.*

5. Schleim in ganz geringer Menge.

6. Einzelne Hefezellen oder Bakterien in ganz geringer Anzahl.

7. Pflanzenzellen verschiedener Struktur und Größe und Pflanzenfasern.

Als abnorme Bestandteile betrachtet man bei der mikroskopischen Untersuchung folgende:

1. Geschwulstpartikel und Schleimhautfragmente. Dieselben müssen einer genauen histologischen Untersuchung unterworfen werden. Zur besseren Auffindung dieser Partikel gießt man den Mageninhalt in eine flache Glasschale aus und stellt sie auf schwarzes Papier.

2. Rote Blutkörperchen in großer Menge. Dieselben behalten ihre Form und Struktur nur bei neutraler oder schwach alkalischer Reaktion des Mageninhalts. Bei Säureanwesenheit werden sie schnell zersetzt.

3. Eiterkörperchen in großer Anzahl.

4. Schleim in reichlicher Menge.

5. Hefepilze und Sarcina ventriculi in größeren Mengen. Die Hefepilze erscheinen als ovale, ziemlich stark lichtbrechende, häufig perlschnurartig aneinander gereihte Zellen. Sie färben sich mit Jod gelb. Die Sarcine kommt im Mageninhalt in zwei verschiedenen Formen vor: 1. in Warenballenform; 2. in Form von regellosen Haufen oder kubisch angeordneten Ballen. Für die Sarcine ist die Zellulosereaktion charakteristisch: sie färbt sich nach Zusatz einer

* Die Schnecken- oder Spiralzellen bilden sich aus Myelin durch Einwirkung von Salzsäure; sie finden sich besonders häufig im nüchternen Magensekret.

Chlorzinkjodlösung (Chlorzink —20·0, Jodkalium —6·5, Jod —1·3, Wasser —10·5) rotviolett. Besonders viel Hefezellen und Sarcine findet man bei Magenkrankheiten, bei welchen eine Stagnation des Mageninhalts stattfindet.

6. Spaltpilze, nur wenn sie in sehr reichlicher Menge vorhanden sind und das Gesichtsfeld des Mikroskops völlig beherrschen. Von den verschiedenen Bakterienarten findet man ziemlich oft bei Magenkarzinom die sogenannten *Boas*schen „Fadenbazillen". Sie erscheinen als ziemlich lange, meist winklig aneinander gelagerte, sehr schwach bewegliche Stäbchen. Sie sind zwar für den Magenkrebs nicht spezifisch, man findet sie aber fast in 75% der Fälle. Sie kommen außerdem noch in allen Fällen vor, wo eine Stagnation des Mageninhalts bei gleichzeitigem Fehlen von freier Salzsäure und Bildung von Milchsäure stattfindet.

7. Kristallinische Gebilde finden sich ziemlich selten im Mageninhalte; es sind beschrieben: Leuzin- und Tyrosinkristalle (bei Stagnation), Tripelphosphat-Kristalle und Kristalle von phosphorsaurer Magnesia (nur in alkalischen oder neutralen Magensekreten), sehr selten Cholesterintafeln. Zur Identifizierung der Kristalle benutzt man am besten die mikrochemischen Reaktionen (conf. Mikroskopie des Harns).

VI. KAPITEL.

Die Untersuchung der Fäces.

Allgemeine Eigenschaften.

1. **Farbe.** Unter normalen Verhältnissen ist beim Erwachsenen das Hydrobilirubin der eigentliche Kotfarbstoff; Bilirubin kommt normalerweise nur bei Säuglingen vor. Die Färbung der Fäces wird aber nicht allein durch die Farbstoffe verursacht, sondern es wirken hier eine ganze Reihe von Faktoren mit, von denen in der Regel die Art der Nahrung hauptsächlich in Betracht kommt.

Bei gemischter Kost zeigt der Kot eine gelbbraune Färbung, bei Fleischnahrung ist er dunkel- bis schwarzbraun gefärbt, während bei ausschließlicher Milchdiät die Farbe des Kotes orange- bis hellgelb erscheint. Wenn die Nahrung eine charakteristische Eigenfarbe besitzt, so können besondere Färbungen der Fäces dadurch hervorgerufen werden. Nach reichlichem Genuß z. B. von chlorophyllhaltigem Gemüse oder Salaten entsteht eine Grünfärbung, nach Blutwurst eine schwarzbraune, nach Kakao eine schwarzrote Färbung. Schwarze Kirschen und Brombeeren färben den Kot schwarzrot, Rotwein und Heidelbeeren schwarzbraun mit einem Stich ins Grünliche. Auch Arzneimittel verursachen häufig eine charakteristische Färbung des Kotes.

Am bekanntesten ist die Grünfärbung nach Gebrauch von Kalomel. Sie beruht auf der Umwandlung des Bilirubins innerhalb des Darmkanals in Biliverdin. Nach Einnahme von Wismutpräparaten ist der Kot schwarz gefärbt. Die Färbung wird durch die Reduktion des Bismuthum subnitricum in schwarzes Bismutoxydul bedingt. Eisenpräparate bewirken ebenfalls manchmal eine schwarze Färbung der Fäces, welche sich aber nur auf die Oberfläche derselben beschränkt.

Bei pathologischen Zuständen können die pathologischen Produkte der Darmwand die Farbe der Fäces mehr oder weniger beeinflussen. So können reichliche Beimischungen von Schleim oder Eiter eine grauweiße bis gelbgraue Farbe verursachen, Blut kann je nach der Menge und nach dem Grade der Veränderung des Hämoglobins eine hellrote bis pechschwarze Färbung hervorrufen. Auch Bakterien sind imstande, eine eigenartige Färbung des Kotes zu bedingen. So ist es gelungen, in Stühlen junger Säuglinge und Kinder einen Bazillus zu züchten (Bacille de la diarrhoe verte des enfants, *Lesage*), dessen Kulturen ein grünes Pigment enthalten, welches die grüne Färbung des Kotes verursacht. Auch Bacillus pyocyaneus kann unter Umständen eine grüne Färbung der Fäces hervorrufen.

Infolge Abschlusses des Ductus choledochus (durch katarrhalische Schwellung, Gallensteine, Tumoren, Askariden etc.) entstehen tonfarbige (acholische) Stühle, welche reichlich Fett enthalten.

Bei sehr beschleunigter Darmperistaltik mit profusen Diarrhöen kann der unzersetzte Gallenfarbstoff (Biliverdin) eine Grünfärbung der Fäces verursachen.

2. **Konsistenz und Form.** Nach der Konsistenz unterscheidet man: feste oder geformte, dick- und dünnbreiige und wässerige Stühle. Bei vorwiegend animalischer Kost zeigt der Stuhl in der Regel eine zylindrisch geformte Beschaffenheit, während bei pflanzlicher Diät meist ein dickbreiiger Kot entleert wird. Der feste Kot zeigt zuweilen eine „Bleistiftform" (bei Stenosen oder Spasmen des Dickdarms) oder sogenannte „Schafkotform". In letzterem Falle werden haselnußgroße, rundliche Kotballen entleert. Dünnbreiige und wässerige Stühle werden meist unter pathologischen Verhältnissen entleert. Eine teerartige Beschaffenheit bei gleichzeitiger Schwarzfärbung zeigen die Fäces bei starken Blutungen aus dem oberen Darmabschnitte oder dem Magen.

3. **Geruch.** Unter normalen Verhältnissen wird der Geruch der Fäces hauptsächlich durch die Anwesenheit von Skatol, welches bei der Fäulnis der Eiweißkörper entsteht, bedingt. Das gleichzeitig entstehende Indol hat einen geringen Einfluß auf den Geruch des Stuhls.

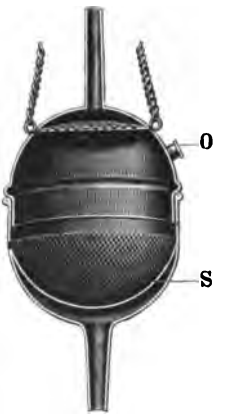
Dementsprechend ist der Geruch des Kotes von der Zusammensetzung der Nahrung und der Intensität der Zersetzungsprozesse im Darmkanal abhängig. Bei eiweißreicher Fleischnahrung ist der Kotgeruch viel deutlicher als bei vegetabilischer und bei Darmatonie intensiver als bei normaler Darmperistaltik. Bei ausschließlicher Milchdiät ist der Geruch sehr gering und daher ist der normale Stuhl der Säuglinge fast geruchlos. Jeder stinkende Säuglingsstuhl muß infolgedessen als pathologisch betrachtet werden.

Bei akuten und chronischen Diarrhöen ist der Stuhl sehr oft geruchlos; die charakteristischen „reiswasserartigen" Stühle bei Cholera asiatica sind ebenfalls meist geruchlos. Einen eigenartigen leimartigen Geruch zeigen die Entleerungen bei Amöbendysenterien. Acholische Stühle sind an sich fast geruchlos; sie bekommen einen üblen Geruch erst dann, wenn Zersetzungsprozesse infolge von Darmatonie den Gallenmangel

begleiten. Fötid riechende Stühle kommen in Fällen von ulzerierenden und in Zerfall begriffenen Mastdarmkarzinomen vor.

4. **Makroskopisch sichtbare Beimischungen.** Eine oberflächliche Betrachtung der Fäces genügt in der Regel nicht, um die makroskopisch erkennbaren Bestandteile derselben zu finden. Zu diesem Zwecke müssen wässerige Stühle in flache Gefäße (Schalen) ausgegossen werden, während dickbreiige und feste Stühle zunächst vorsichtig mit einem Glasstab mit größeren Mengen Wasser zerrieben werden.

Fig. 18.



Am besten werden die makroskopisch erkennbaren Bestandteile durch das von *Boas* vorgeschlagene Stuhlsieb ausgeschieden. Es besteht (Fig. 18) aus zwei Halbkugeln, welche mittelst Bajonettverschluß leicht zu schließen und zu öffnen sind. In der unteren Halbkugel befindet sich ein äußerst feines Haarsieb S, auf welchem die Fäces ausgebreitet werden. Die obere Halbkugel wird mittelst eines passenden Ansatzrohrs leicht mit jeder Wasserleitung in Verbindung gebracht und mit einer Kette an derselben befestigt. Man dreht vorsichtig

den Wasserleitungshahn auf und läßt einen kontinuierlichen feinen Strahl über die Fäces fließen.

In der oberen Halbkugel befindet sich eine mit einem Deckel verschließbare Öffnung O, durch welche ein Glasstab hineingeführt wird, um die Fäces während der Durchspülung zu einer breiigen Masse zu zerreiben. Durch ein Ansatzrohr der unteren Halbkugel fließt das Wasser in ein Abflußbecken. Nach 15—30 Minuten ist die Prozedur beendet und auf dem Sieb sind nur gröbere Bestandteile des Stuhles vorhanden. Unter den makroskopisch erkennbaren Bestandteilen der Fäces sind hauptsächlich zu berücksichtigen:

1. Unverdaute Nahrungsreste.
2. Pathologische Produkte der Darmwand.
3. Darmparasiten.
4. Gallen- und Darmsteine.
5. Zufällig verschluckte Gegenstände.

Von den Bestandteilen der animalischen Kost werden normalerweise nur die schwer verdaulichen oder zufällig verschluckten Knochen, Knorpel, Gräten und Sehnen in den Fäces gefunden. Das Vorkommen von Muskelstücken oder Bindegewebe bei zweckmäßiger Zubereitung und nicht sehr großer Menge der aufgenommenen Fleischnahrung wird als pathologisch betrachtet.

Von der vegetabilischen Nahrung geben Mehlspeisen, Weißbrot, Kartoffeln und saftige Früchte (ohne Schale) keine makroskopisch erkennbaren unverdauten Bestandteile.

Fast unverändert passieren den Darmkanal und erscheinen im Kot rohe Gemüse (Gurken, Kopfsalat, Zwiebeln, Radieschen, Spargel, Schnittbohnen), viele Fruchtarten (Preiselbeeren, Nüsse, Korinthen). Gekochte Früchte und Gemüse werden bedeutend besser verdaut, und es erscheinen in makroskopisch erkennbarer Form im Stuhle gewöhnlich nur die schlecht gekochten und mangelhaft zerkleinerten Exemplare. Jedenfalls lassen sich aus dem Erscheinen von unverdauten vegetabilischen Speiseresten im Kot keine diagnostischen Schlüsse ziehen.

Von den Produkten der Darmwand ist die Beimengung von Schleim zu den Stühlen von besonderer Wichtigkeit.

Nach *Nothnagel* ist jede Beimischung von Schleim zum Stuhl als eine Abweichung von dem physiologischen Verhalten zu betrachten. Makroskopisch sichtbarer Schleim kann in verschiedener Form, Konsistenz und Menge im Kot vorkommen.

Bei Erkrankungen des unteren Darmabschnitts erscheint der Schleim als eine glasige, mit den Fäces nicht gemischte Masse in mehr oder weniger reichlicher Menge. Bei Enteritis membranacea finden sich Fetzen, Membranen und bandartige Streifen von Schleim. Stammt der Schleim aus den höheren Abschnitten des Dickdarms, so ist er innig mit der Fäkalsubstanz gemischt (bei breiiger oder flüssiger Konsistenz der letzteren) oder erscheint in ganz kleinen, eben noch mit bloßem Auge sichtbaren Fetzen.

Makroskopisch erkennbare Eiterbeimischungen zum Stuhl stammen meist aus den unteren Darmwegen, da der Eiter aus den höheren Darmabschnitten solche physikalischen und chemischen Veränderungen erfährt, daß er makroskopisch nicht mehr erkennbar ist.

Blut kann in frischem, geronnenem oder zersetztem Zustande dem Stuhl beigemischt sein. In letzterem Falle erhalten die Fäces ein teerartiges Aussehen. Es wird gewöhnlich angenommen, daß je dunkler das Blut in den Fäces erscheint, desto höher der Sitz der Blutung ist.

Geschwulstpartikel (Karzinomfragmente, exfoliierte Darmpolypen) können nur mit Hilfe einer genauen histologischen Untersuchung erkannt werden, da sie makroskopisch mit unverdauten Fleischresten verwechselt werden können.

Von den makroskopisch erkennbaren Parasiten sind die häufigsten: Proglottiden der Bandwürmer, Ascaris lumbricoides, Anchylostoma duodenale, Oxyuris vermicularis und Trichocephalus dispar; selten sind Insekten und deren Larven.

Darm- und Gallensteine unterscheiden sich zwar meist von den anderen Bestandteilen der Fäces durch ihre Form, Konsistenz und Oberfläche; nicht selten aber werden sie von den Patienten sowie den Ärzten mit verschiedenen anderen festen Bestandteilen des Stuhles verwechselt, so daß nur eine genauere chemisch-mikroskopische Untersuchung in jedem einzelnen Falle eine sichere Feststellung der Natur des frag-

lichen Gebildes ermöglicht. Die zufällig verschluckten und im Kot wieder erscheinenden Fremdkörper sind von sehr verschiedenartiger Natur. Sie passieren meist unverändert den Darmtraktus und sind daher in der Regel ohne weitere Prüfung leicht erkennbar.

5. **Menge der Stuhlgänge.** Die Menge der täglich entleerten Exkremente unterliegt auch unter normalen Verhältnissen sehr großen Schwankungen, es läßt sich daher aus derselben im allgemeinen für die Diagnose kein wichtiger Schluß ziehen. Hauptsächlich ist die Menge der Fäces von der Quantität und Art der Nahrung und dem Zustande der Verdauungsorgane abhängig. Vegetabilische Nahrungsmittel geben eine bedeutend größere Kotmenge als animalische. Bei pathologischen Veränderungen der Verdauungsorgane kann die Quantität der Fäces entweder durch Störung der Resorption oder durch Beimischung pathologischer Produkte der Darmwand (Schleim, Eiter, Blut) bedeutend vermehrt werden.

Die qualitative chemische Untersuchung der Fäces.

1. **Reaktion.** Unter normalen Verhältnissen zeigen die Fäces keine bedeutenden Abweichungen von der neutralen Reaktion. Meist reagieren sie schwach alkalisch oder neutral; eine schwach saure Reaktion tritt nur bei ausschließlicher vegetabilischer Diät hervor. Die Prüfung geschieht in bekannter Weise durch Lackmuspapier.

Man befeuchtet zwei Streifen (roten und blauen) Lackmuspapiers mit destilliertem Wasser, bringt sie mit dem Kote in Berührung und beobachtet auf der nicht beschmutzten Seite die Veränderung der Farbe. Vor der Prüfung muß der Kot durchgemischt werden, da es häufig vorkommt, daß die Fäces aus Bestandteilen von verschiedener Reaktion zusammengesetzt sind, oder daß die Kotsäule auf der Oberfläche und in den tieferen Teilen verschieden reagiert. Außerdem muß die Prüfung möglichst bald nach der Entleerung ausgeführt werden, weil nicht selten sehr schnell Veränderungen der Reaktion eintreten. Stühle von härterer Konsistenz müssen vorher mit destilliertem Wasser verrieben werden.

2. **Mucin.** Handelt es sich darum, die Fäces in toto auf Mucin zu untersuchen, so werden dieselben mit einer geringen Menge Wasser verrieben und mit einem gleichen Volumen Kalkwasser versetzt. Man läßt das Gemisch einige Stunden stehen, filtriert und versetzt das Filtrat mit Essigsäure. Ist Mucin vorhanden, so entsteht ein Niederschlag, welcher sich im Überschuß von Essigsäure nicht auflöst. Um jedoch mit Sicherheit den Niederschlag als Mucin zu erklären, muß nachgewiesen werden: 1. daß er keinen Phosphor enthält und 2. daß er beim Kochen mit 7·5% Salzsäure nach kurzer Zeit (10—20 Minuten) eine starke Reduktion mit der *Fehling*schen Lösung gibt.

Will man auf Schleim verdächtige Beimengungen der Fäces als solchen durch Nachweis des Mucins identifizieren, so löst man sie in schwacher Natronlauge und prüft mit Essigsäure. Der Niederschlag muß ebenfalls auf seinen Phosphorgehalt und seine reduzierenden Eigenschaften nach Kochen mit Salzsäure untersucht werden.

3. **Fett.** Fett erscheint sehr oft schon unter normalen Verhältnissen in den Stühlen; es besteht meist aus einem Gemisch von neutralem Fett, Fettsäuren und Seifen (fettsaurer Kalk oder Magnesia).

Der qualitative Nachweis des Fettes in den Fäces ist sehr leicht: Man verreibt dieselben mit einer geringen Menge Äther, läßt ein wenig absetzen, hebt mit einer Pipette einen Teil des Äthers ab und läßt einen Tropfen davon auf Filtrierpapier verdunsten; es bleibt ein durchsichtiger, mit Wasser nicht auswaschbarer Fleck zurück. Die Tatsache, daß der Stuhl Fett enthält, kann aber keine diagnostische Bedeutung haben, da, wie oben bereits erwähnt wurde, dasselbe sehr oft, besonders nach reichlichem Fettgenuß, schon in der Norm in deutlich nachweisbaren Mengen erscheint. Es muß daher für diagnostische Zwecke nicht selten eine quantitative Bestimmung des Gesamtgehaltes an Fett ausgeführt werden.

4. **Blut.** Ist das Blut in unzersetztem Zustande den Fäces beigemengt, so daß es makroskopisch leicht erkennbar ist, so genügt zur Kontrolle der mikroskopische Nachweis der roten Blutkörperchen oder der spektroskopische Nachweis des

Oxyhämoglobins. Ist aber der Blutfarbstoff schon verändert, so kann er nur auf chemischem oder spektroskopischem Wege nachgewiesen werden.

a) Der chemische Nachweis nach *Weber*. Eine größere Portion Fäces wird mit 30%iger Essigsäure bis zur flüssigen Konsistenz verrieben und in einem Reagenzglas mit Äther extrahiert. Ein Teil des Äthers, welcher bei Anwesenheit von Blut sich braunrot färbt, wird mit 20—30 Tropfen altem Terpentinöl und mit 10 Tropfen frischer Guajaktinktur versetzt; beim Schütteln entsteht eine blauviolette Färbung; der blaue Farbstoff kann nach Zusatz von Wasser durch Chloroform extrahiert werden. Den Rest des braunroten Ätherextraktes kann man zur

b) spektroskopischen Untersuchung benützen. Man findet dabei die charakteristischen 4 Absorptionsstreifen des Hämatins in saurer Lösung: 1. im Rot, 2. im Gelb, 3. auf der Grenze zwischen Gelb und Grün, 4. auf der Grenze zwischen Grün und Blau.

5. Gallenbestandteile.

a) Gallenfarbstoffe. Unter normalen Verhältnissen enthält der Stuhl des Erwachsenen keine unveränderten Gallenfarbstoffe: Bilirubin oder Biliverdin. Die Farbe der normalen Fäces ist hauptsächlich durch das reduzierte Bilirubin — Hydrobilirubin — (dem Urobilin identisch) bedingt.

Das Hydrobilirubin wird nach *Schmidt* in folgender Weise nachgewiesen: Frische Fäces (ein haselnußgroßes Stück) werden im Mörser mit konzentrierter, wässriger Sublimatlösung fein verrieben und mehrere Stunden in einem weiten Schälchen stehen gelassen. Alle hydrobilirubinhaltigen Teilchen der Fäces färben sich dabei intensiv rot (Bildung von Quecksilber-Hydrobilirubin), während die unverändertes Bilirubin enthaltenden Teile eine grüne Färbung zeigen.

Nach *Schlesinger* wird Hydrobilirubin in den Fäces ebenso wie Urobilin im Urin mittelst alkoholischer Zinkacetatlösung nachgewiesen.

Das unveränderte Bilirubin kann außer durch die oben erwähnte Probe nach *Schmidt* noch durch folgende Reaktionen in den Fäces nachgewiesen werden:

1. Die *Gmelin*sche Probe. Man bringt einige Tropfen salpetrige Säure enthaltender Salpetersäure in eine Porzellanschale oder in einen Tiegeldeckel und läßt einige Tropfen der mit Wasser gut verrührten Fäces zufließen. Es entsteht ein Farbenumschlag in grün, blau, violett, rot und gelb. Charakteristisch für Bilirubin ist die grüne Farbe. Diese Probe kann auch auf einem Objektträger ausgeführt und mikroskopisch beobachtet werden.

2. Probe nach *Huppert*. 20—30 cm^3 mit Wasser bis zur dünnflüssigen Konsistenz verrührter Fäces werden mit einem gleichen Volumen Kalkmilch versetzt, tüchtig durchgeschüttelt und dann filtriert. Der Niederschlag auf dem Filter wird mit Wasser ausgewaschen, zusammen mit dem Filter in ein Becherglas gebracht, mit einer geringen Menge (5—10 cm^3) mit Schwefelsäure leicht angesäuerten Alkohols übergossen und vorsichtig bis zum Sieden erwärmt. Bei Gegenwart von Bilirubin entsteht eine grüne Färbung der Flüssigkeit.

b) Gallensäuren. In der Norm werden die Gallensäuren aus den Fäces in den oberen Teilen des Darmkanals resorbiert, so daß ihr Erscheinen in den Stühlen als pathologisch betrachtet werden muß. Zum Nachweis der Gallensäuren extrahiert man eine kleine Menge Fäces mit Alkohol und filtriert; das Filtrat wird zum Verjagen des Alkohols abdestilliert und der Rückstand mit durch Soda schwach alkalisch gemachtem Wasser aufgenommen. Mit der wässrigen Lösung wird die *Pettenkofer*sche Reaktion ausgeführt, d. h. man versetzt die Lösung mit etwas Rohrzucker und einigen Tropfen Schwefelsäure; bei Gegenwart von Gallensäuren erhält man eine rote Färbung.

Quantitative chemische Untersuchung der Fäces.

1. Bestimmung der Trockensubstanz.

Eine abgewogene Probe des Kotes wird zunächst durch Eindampfen auf dem Wasserbade lufttrocken gemacht. Es empfiehlt sich, neutral oder alkalisch reagierende Fäces vor dem Eindampfen mit einer geringen Menge verdünnter Schwefel-

säure anzurühren, um keine Verluste durch Verflüchtigung von NH_3 zu erleiden, welche bei späteren Stickstoffbestimmungen sehr in Betracht kommen können. Der lufttrockene Kot ist noch nicht wasserfrei und muß daher noch bei höherer Temperatur bis zur Gewichtskonstanz getrocknet werden. Die lufttrockenen Fäces werden jetzt in einem Mörser sorgfältig zerpulvert. Diese Prozedur gelingt aber bei fettreichen Stühlen schlecht und es empfiehlt sich daher bei makroskopisch erkennbarem, großem Fettgehalt des Stuhles, denselben auf einer gewogenen Menge geglühten Sandes einzudampfen. Ist dies versäumt, so verreibt man den lufttrockenen Kot mit einer etwa 10fachen Menge gewogenen Sandes. Nicht fettreiche Stühle werden im Lufttrockenschrank bei 105° getrocknet, während fettreiche bei 98—99° im Wassertrockenschrank zirka 30—40 Stunden bleiben müssen. Das Fett darf höheren Temperaturen nicht ausgesetzt werden, weil es dabei schmilzt und auf der feuchten Masse eine Decke bildet, welche das weitere Trocknen hindert. Geschieht das Trocknen im Luftschrank, so wird alle 3 Stunden gewogen, bis eine Gewichtskonstanz erreicht ist. Beim Trocknen im Wasserschrank wird erst nach 24—30 Stunden und dann alle 6 Stunden gewogen. Bei gemischter Kost beträgt die Trockensubstanz zirka 25% des Kotes. Bei rein vegetabilischer Nahrung ist die Trockensubstanz bedeutend geringer (10—15%).

2. Bestimmung des gesamten Stickstoffes.

Der Stickstoffgehalt der Fäces wird gewöhnlich nach der Methode von *Kjeldahl* bestimmt.

Die Ausführung geschieht in folgender Weise: 1—1·5 *g* genau abgewogener, unter Zusatz von verdünnter Schwefelsäure getrockneter Fäces werden in einem *Kjeldahl*-Kolben mit 20 cm^3 *Kjeldahl*-Schwefelsäure und einigen Tropfen einer konzentrierten Kupfersulfatlösung versetzt und 6—12 Stunden stehen gelassen. Alsdann wird der Kolben auf einem Sandbade unter dem Abzuge so lange erhitzt, bis die Flüssigkeit farblos ist oder eine ganz schwachweingelbe Farbe zeigt. Im übrigen wird die Bestimmung wie bei der Stickstoffbestimmung im Harn ausgeführt.

3. Bestimmung des Fettgehaltes.

Das Fett der Fäces besteht aus einem Gemisch von Ölsäure, Palmitin- und Stearinsäure, ihren Salzen (Seifen) und Glyzerinestern (Neutralfette). Die quantitativen Verhältnisse dieser Komponenten der Fäces untereinander unterliegen bedeutenden Schwankungen und sind in erster Linie von der Art des Nahrungsfettes abhängig. Für klinische Zwecke ist hauptsächlich die Bestimmung des Gesamtfettgehaltes von Bedeutung. Die getrennte Bestimmung der Neutralfette, Fettsäuren und Seifen wird nur für spezielle Untersuchungen vorgenommen, während die getrennte Bestimmung der Ölsäure, Stearin- oder Palmitinsäure gar keine praktische Bedeutung hat.

Bestimmung des Gesamtfettgehaltes der Fäces.

Die einfachste Methode ist die Ätherextraktion. In Äther sind aber nur die Neutralfette und freien Fettsäuren löslich, die Seifen müssen daher vor der Extraktion gespaltet werden.

3—4 *g* der genau abgewogenen, getrockneten und gut gepulverten Fäces werden in einem Porzellanschälchen mit einer geringen Menge 1%igem salzsaurem Alkohol auf dem Wasserbade bis zur Trockne erwärmt, wobei die Seifen zerlegt werden. Der Trockenrückstand wird vollständig in die Hülse des Soxhletapparates gebracht (die Schale wird mit Filtrierpapierstückchen sorgfältig ausgewischt und die letzteren werden ebenfalls in die Hülse gebracht). Die Extraktion wird 12 bis 24 Stunden fortgesetzt. Nach beendeter Extraktion verdampft man den Äther in einem leichten, gewogenen Kölbchen, vertreibt die letzten Ätherreste durch einen Luftstrom, trocknet einige Stunden bei 80° oder kurze Zeit bei 105° und wägt den trockenen Rückstand.

Der Nachteil dieser Methode besteht darin, daß zusammen mit den Neutralfetten, Fettsäuren und Seifen auch andere ätherlösliche Körper, wie Cholesterin, Lecithin, Cholalsäure und Farbstoffe, bestimmt werden. Die Menge dieser Substanzen im Ätherextrakte ist allerdings verhältnismäßig gering, so daß sie für die gewöhnliche klinische Schätzung des Fettgehaltes vernachlässigt werden kann.

4. Bestimmung der Kohlehydrate.

a) Indirekte Bestimmung sämtlicher Kohlehydrate.

Bei dieser Methode werden die Kohlehydrate als stickstofffreie Extraktivstoffe berechnet, indem aus der Trockensubstanz der Fäces die Werte für Eiweiß, Fett und Asche abgezogen werden. Selbstverständlich gibt diese Methode ziemlich ungenaue und wenig brauchbare Resultate, erstens weil der berechnete Rest auch andere Substanzen (Pflanzensäuren, Farbstoffe etc.) außer Kohlehydraten enthält, zweitens weil nach der Gesamtmenge der Kohlehydrate keine Beurteilung der Verdauungsleistung möglich ist.

Eine derartige Beurteilung ist nur dann ermöglicht, wenn man die fast unverdauliche Zellulose von der leicht löslichen Stärke trennt. Da wir aber für die quantitative Bestimmung der Zellulose keine genaue und einfache Methode besitzen, so wird gewöhnlich zur Beurteilung der Verdauung der Kohlehydrate eine direkte Bestimmung der Stärke vorgenommen.

b) Direkte Bestimmung der Stärke nach *Liebermann-Allihn.*

Das Prinzip des Verfahrens besteht darin, daß die Stärke durch Kochen mit Salzsäure in Traubenzucker invertiert wird, die Zuckerlösung mit *Fehling*scher Lösung gekocht und das ausgeschiedene Kupferoxydul zu metallischem Kupfer durch Wasserstoff reduziert wird. Nach der Menge des Kupfers wird die Quantität des Traubenzuckers bestimmt und auf Stärke umgerechnet.

Enthalten die Fäces reichliche Beimischungen von Schleim, so muß derselbe, soweit möglich, mechanisch mit einer Pinzette entfernt werden, da Mucin beim Kochen mit Salzsäure einen Kupfer reduzierenden Körper abspaltet.

3—5 *g* der getrockneten, fein zerpulverten und genau abgewogenen Fäces werden in einem Kolben mit 100 cm^3 2%iger Salzsäure versetzt und auf dem Sandbad am Rückflußkühler $1^1/_2$ Stunden gekocht; hierauf wird mit Natronlauge neutralisiert, die Flüssigkeit durch ein Asbestfilter

mittelst der Saugpumpe in einen 500 cm^3 fassenden Kolben filtriert, mit heißem Wasser nachgewaschen und das Volumen des Filtrats auf 500 cm^3 gebracht. Man bringt jetzt 30 cm^3 einer 7%igen Kupfersulfatlösung (*Fehling*sche Lösung Nr. 1), 30 cm^3 einer alkalischen Seignettesalzlösung (*Fehling*sche Lösung Nr. 2) und 60 cm^3 Wasser in ein Becherglas oder eine Porzellanschale und erhitzt das Gemisch bis zum Kochen. Zu der siedenden Flüssigkeit läßt man aus einer Pipette 25 cm^3 der Zuckerlösung zufließen, kocht drei Minuten und filtriert das ausgeschiedene Kupferoxydul sofort ab.

Zum Filtrieren bedient man sich eines Asbestfilterröhrchens. Das Röhrchen muß mit langfaserigem, weichem Asbest gefüllt werden; damit beim Filtrieren keine Asbestpartikelchen mitgerissen werden, bringt man an der konischen Stelle des Röhrchens unterhalb der Asbestlage einen kleinen Pfropfen Glaswolle an. Das Filtrieren geschieht am besten mittelst der Saugpumpe. Vor dem Gebrauch wird das Röhrchen bei 100° C getrocknet und abgewogen. Das auf dem Asbestfilter gesammelte Kupferoxydul wird zunächst mit kaltem Wasser, sodann mit Alkohol und Äther ausgewaschen und im Trockenschrank (bei 100° C) 15 Minuten getrocknet. Durch das trockene Röhrchen wird jetzt aus einem *Kipp*schen, Wasserstoff entwickelnden Apparat unter gelindem Erwärmen ein Strom reinen, trockenen Wasserstoffgases hindurch geleitet. Sobald der Niederschlag die charakteristische Kupferfarbe angenommen hat und das Röhrchen vollkommen trocken ist, wird das Erwärmen unterbrochen; man läßt das Röhrchen im Wasserstoffstrom erkalten und wägt. Aus der gefundenen Kupfermenge wird der Traubenzuckergehalt berechnet.

c) Die Gärungsprobe nach *Schmidt*.

Diese Probe ermöglicht den Nachweis und die annähernde quantitative Bestimmung der den Verdauungssäften leicht zugänglichen Kohlehydrate und ist daher als eine Methode zur Bestimmung der Leistung des Verdauungsapparates zu empfehlen, um so mehr, als ihre Ausführung sich sehr einfach gestaltet.

Das Prinzip der Methode beruht darauf, daß die gelösten Kohlehydrate sowie die freiliegende und leicht an-

greifbare (in dünne Zellulosehüllen eingeschlossene) Stärke durch die im Kote stets vorhandene Diastase invertiert und dann durch Darmbakterien unter Gasentwicklung vergoren werden. Die Probe wird folgenderweise ausgeführt:

Fig. 19.

5 *g* Fäces werden in das Gefäß *a* des *Schmidt*schen Gärungsapparates (Fig. 19) gebracht, mit Wasser gut verrührt und das Gefäß mit dem Gummipfropfen unter Vermeidung von Luftblasen geschlossen. Das Röhrchen *b* wird ebenfalls mit Wasser ohne Luftblasen gefüllt und mit dem

kleineren Gummipfropfen verschlossen. Der ganze Apparat wird für 24 Stunden in den Brutschrank (37° C) gestellt. Das bei der Gärung sich entwickelnde Gas wird einen Teil des Wassers aus dem Röhrchen *b* in das Röhrchen *c* vertreiben. Die Luft aus dem Röhrchen *c* entweicht durch die Öffnung *d*. Nach der Höhe des Wasserstandes im Röhrchen *c* wird die Menge des ausgeschiedenen Gases respektive die Menge der vergärbaren Kohlehydrate beurteilt.

Für diagnostische Zwecke ist nur der positive Ausfall der Probe verwertbar, da unter pathologischen Verhältnissen die Probe auch bei Anwesenheit von Zucker und Stärke negativ ausfallen kann.

Nach *Schmidt* kann eine intestinale Dyspepsie diagnostiziert werden, wenn bei der von ihm und *Strassburger* angegebenen Probediät in 24 Stunden sich so viel Gas bildet, daß das Röhrchen *c* mindestens bis zu $^1/_4$ mit Wasser gefüllt ist.

Die Probediät besteht im ganzen aus:

1·5 Liter Milch,
$3^1/_2$ Eiern,
Schleim aus 80 *g* Hafergrütze,
100 *g* Zwieback,
20 *g* Zucker,
20 *g* Butter,
125 *g* Filet } roh.
190 *g* Kartoffeln }

Untersuchung der Gallensteine und Gallenkonkremente.

Allgemeine Eigenschaften.

Die Farbe der Gallensteine ist gewöhnlich weißlichgelb, seltener braunrot. Steine aus reinem Cholesterin sind fast farblos und zeigen eine deutlich ausgesprochene kristallinische Beschaffenheit.

Die Größe ist erheblichen Schwankungen unterworfen: von Stecknadelkopf- bis Walnußgröße.

Die Konsistenz zeigt ebenfalls verschiedene Grade der Härte, doch sind im allgemeinen die Gallensteine bedeutend weicher und leichter als die typischen Darmsteine.

Auf der Querschnittsfläche zeigen die Gallensteine nicht selten einen deutlichen Kern und gut ausgesprochene Schichtung.

Nach ihrer chemischen Beschaffenheit teilt *Naunyn* die Gallensteine in folgende Gruppen ein:

1. *reine Cholesterinsteine* mit glatter oder warziger Oberfläche, weißem Gefüge und kristallinischer Struktur,

2. *geschichtete Cholesterinsteine,* gefärbt und geschichtet,

3. *gewöhnliche Gallensteine,* geschichtet, gefärbt, aber nicht kristallinisch,

4. *gemischte Bilirubinkalksteine,* geschichtet und gefärbt, der Kern besteht meist aus Cholesterin,

5. reine Bilirubinkalksteine, dunkelbraunrot gefärbt, Hauptbestandteil Kalkverbindungen der Gallenfarbstoffe Bilirubin, Biliverdin, Bilifuszin und Biliprasin; Cholesterin nur in sehr geringen Mengen oder gar nicht vorhanden,

6. amorphe Cholesterinsteinchen, Konglomeratsteine, Abgüsse von Gallengängen sind sehr seltene Vorkommnisse.

Die chemische Untersuchung.

Da die Gallensteine und Gallenkonkremente hauptsächlich aus Cholesterin und Kalkverbindungen der Gallenfarbstoffe bestehen, so müssen in den Fällen, in welchen die Natur des Steines unbekannt ist, zur Identifizierung desselben als Gallenstein diese Hauptbestandteile chemisch nachgewiesen werden. Es wird zu diesem Zwecke folgenderweise verfahren:

Der Stein wird gepulvert und mit Wasser ausgekocht. Dadurch werden die eventuell vorhandenen Spuren von Gallensäuren entfernt. Der Rückstand wird alsdann mit einer warmen Mischung von Alkohol und Äther zu gleichen Teilen extrahiert. In Lösung geht Cholesterin; der Rückstand (1) enthält die an Kalzium gebundenen Gallenfarbstoffe und die in Wasser unlöslichen anorganischen Salze. Zum Nachweis des Cholesterins

zentrifugiert man die alkohol-ätherische Lösung vom Rückstand ab und läßt sie verdunsten; bei Anwesenheit von Cholesterin scheidet sich dasselbe in Form von großen, sehr dünnen, charakteristisch gelagerten, farblosen, rhombischen Tafeln aus. Seltener erscheint es in Form von seidenglänzenden Nadeln.

Zur Identifizierung des Cholesterins werden folgende Reaktionen benutzt: 1. Man läßt auf dem Objektträger konzentrierte Schwefelsäure zum Cholesterin zufließen; die Kristalle schmelzen dabei von ihren Rändern aus und färben sich karminrot; setzt man nachdem eine *Lugol*sche Jodjodkaliumlösung zu, so entstehen blaue, rote und grüne, violette Färbungen.

2. Man löst eine ganz geringe Menge vollkommen trockenen Cholesterins in Eisessig und gibt einige Tropfen konzentrierter Schwefelsäure zu. Es entsteht eine Violettfärbung, welche sehr schnell in tiefgrün übergeht. Die Probe gelingt nur dann, wenn man das Cholesterin in ganz trockenem Zustande verwendet.

Zum Nachweis des Bilirubinkalziums wird der Rückstand (1) mit Salzsäure übergossen (bei Anwesenheit von kohlensaurem Kalk entsteht dabei Aufbrausen) und erhitzt. Die Gallenfarbstoffe werden dadurch aus ihren Kalkverbindungen frei gemacht. Nach dem Erkalten extrahiert man das Bilirubin mit Chloroform. Den Chloroformauszug kann man entweder kristallisieren lassen oder zur Ausführung der *Gmelin*schen Probe benutzen.

Kotsteine, Darmsteine und Pankreassteine.

Als Kotsteine oder Koprolithen bezeichnet man solche steinartigen Gebilde, welche aus eingedickten Kotmassen zusammengesetzt sind. Sie bilden sich meist an solchen Stellen des Dickdarmes, an welchen eine Stauung der Kotmassen am leichtesten stattfindet, z. B. an den Flexuren oder in dem Processus vermiformis. Die Koprolithen können eine so enorme Größe und Festigkeit erlangen, daß sie einen vollkommenen Darmverschluß verursachen. Die echten Darmsteine (Enterolithen) sind viel kleiner als die Kotsteine und zeigen nach ihrer ganzen Beschaffenheit mehr Ähnlichkeit mit den

anderen Arten von Steinen (Harn-, Gallensteinen). Sie bestehen zumeist aus einem organischen Kern (denselben bilden Fruchtsteine, Blutgerinsel, Kotballen usw.), auf welchem sich Schichten von Salzen — meist Erdphosphate oder Tripelphosphate — abgelagert haben.

Man unterscheidet folgende Formen von Enterolithen:

1. Typische Darmsteine. Sie sind rund, schwer, steinhart, konzentrisch geschichtet und enthalten im Innern einen Fremdkörper, welcher den Kern des Konkrements bildet.

2. Leichtere Steine, welche hauptsächlich aus unverdaulichen pflanzlichen Speiseresten bestehen und mit phosphorsauren Salzen inkrustiert sind. Sie zeigen keinen deutlichen Kern und keine Schichtung. Hierher gehören die sogenannten „Hafersteine", welche sich nach reichlichem und dauerndem Genuß von Hafer bilden können.

3. Steine, welche sich aus den eingenommenen Arzneisubstanzen bilden. Solche Steine bestehen meist aus unlöslichen oder sehr schwer löslichen Arzneistoffen, welche in Pulverform eingenommen werden, z. B. Salol, Magnesia, kohlensaurem Kalk usw.

4. Darmgries. Er besteht aus kleinen, harten Körnchen, welche sich meist aus einer organischen Masse, kohlensaurem Kalk und phosphorsaurer Magnesia zusammensetzen.

Die Pankreassteine sind überaus selten in den Fäces zu finden. Sie sind sehr bröcklig und haben eine rauhe Oberfläche. Sie lösen sich leicht in Chloroform und entwickeln beim Glühen einen aromatischen Geruch. Sie bestehen aus kohlensaurem und phosphorsaurem Kalk. Cholesterin und Gallenpigmente waren in den einzelnen, in der Literatur beschriebenen Fällen nachweisbar.

Zur Untersuchung durchsägt man die Konkremente und prüft ein Teilchen des zerpulverten Steines durch Glühen auf dem Platinblech. Verbrennt dabei der größte Teil des Pulvers, so besteht die Hauptmasse des Konkrements aus organischen Substanzen. In solchen Fällen wird die mikroskopische Untersuchung in der größten Zahl der Fälle eine Aufklärung über die Zusammensetzung des Konkrements geben.

Wenn sich dagegen beim Verbrennen der Stein nur schwärzt und einen bedeutenden Rückstand hinterläßt, so besteht er hauptsächlich aus anorganischen Substanzen. Die qualitative Analyse dieser Substanzen wird wie folgt ausgeführt: Eine Probe des gepulverten Steines wird im Reagensglas mit verdünnter Salzsäure versetzt und leicht erhitzt. Entsteht beim Zusatz von Salzsäure eine Gasentwicklung, so sind kohlensaure Salze vorhanden. Der in Salzsäure unlösliche Rest besteht meist aus Sand oder aus organischen Massen. Zur Orientierung wird der Rückstand mikroskopisch untersucht. Die salzsaure Lösung wird vom Rückstand abfiltriert oder abzentrifugiert. Die Flüssigkeit kann enthalten: phosphorsaure Salze (von Kalk, Magnesia), oxalsauren Kalk, Ammoniak und Spuren von Eiweißsubstanzen. Der Nachweis dieser Bestandteile geschieht nach denselben Regeln wie bei der Untersuchung der Harnsteine (cf. daselbst).

Die mikroskopische Untersuchung der Fäces.

Flüssige oder dünnbreiige Fäces gießt man in eine flache Schale aus, entnimmt, wenn sie von einer gleichmäßigen Beschaffenheit sind, ein stecknadelkopfgroßes Stückchen und verteilt es zwischen Objektträger und Deckglas. Finden sich makroskopisch verschieden aussehende Beimischungen, so müssen sie getrennt untersucht werden. Sehr dünnflüssige Stühle läßt man absetzen oder zentrifugiert und untersucht dann das Sediment. Feste Stühle werden mit Wasser oder einer physiologischen Kochsalzlösung in einem Glasmörser verrieben. Bei der mikroskopischen Untersuchung normaler Fäces findet man hauptsächlich nur Nahrungsreste (überwiegend pflanzlicher Herkunft), Bakterien und kristallinische Gebilde in geringer Anzahl. Unter pathologischen Verhältnissen kommen dazu noch die pathologischen Produkte der Darmwand und tierische Parasiten.

Von den **Nahrungsresten** sollen hier nur diejenigen besprochen werden, deren Vorkommen im Stuhle eine diagnostische Bedeutung haben kann. Es kommen hier in Betracht:

1. Muskelfasern. Dieselben sind im Stuhle fast immer durch Gallenfarbstoffe stark gefärbt und daher leicht zu finden. Nach *Schmidt* können sie nach ihrer Form und Struktur in drei Gruppen eingeteilt werden:

a) Große, deutlich gestreifte Stücke mit scharfen, eckigen Konturen;

b) mittlere, an den Ecken abgerundete Rechtecke oder Quadrate, deren Streifung noch zu erkennen ist;

c) kleine, polygonale oder rundliche Schollen, meist homogen oder mit verwaschener Zeichnung.

Findet man bei beschränkter Fleischzufuhr viele Muskelfasern im Stuhle, so ist eine Funktionsstörung des Dünndarms respektive der Pankreasverdauung anzunehmen. Bei ungenügender Zerkleinerung der Speisen durch das Kauen erscheinen nicht selten auch beim gesunden Menschen im Stuhle schon makroskopisch sichtbare fetzige Gebilde, welche hauptsächlich aus halbverdauten Fleischresten bestehen.

2. Bindegewebsfetzen sind sehr oft schon bei der makroskopischen Betrachtung der Fäces sichtbar. Bei der mikroskopischen Untersuchung zeigen sie eine fädige Struktur mit zarter, oft kaum erkennbarer Faserung. An einzelnen Stellen treten die eingestreuten elastischen Fasern deutlich hervor. Durch Zusatz von Essigsäure verschwindet die Struktur des Bindegewebes, während die elastischen Fasern deutlicher sichtbar werden. Das Vorhandensein größerer Mengen von Bindegewebe im Stuhle nach Zufuhr einer mäßigen Fleischquantität (100 *g*) spricht für eine Störung der Magenverdauung, weil nur der Magensaft rohes oder unvollständig gekochtes Bindegewebe zu lösen imstande ist. Normalerweise kann nur nach Zufuhr von geräucherten Fleischsorten Bindegewebe im Stuhle erscheinen, weil dieses rohe Bindegewebe am schwersten verdaut wird.

3. Amylumkörner erscheinen vereinzelt auch in normalen Stühlen. Sind sie bedeutend vermehrt, so ist eine Dünndarmaffektion anzunehmen.

4. Fett. Das Fett kommt in kleinen Mengen in allen Stühlen vor und erscheint in Form von Tropfen, Schollen (Neutralfett) oder in Kristallen (Fettsäuren, Seifen). Die

Fettsäuren unterscheidet man von den Seifen dadurch, daß die ersteren beim Erwärmen schmelzen, während die Seifen unverändert bleiben. Außerdem sind die Fettsäuren in Äther leicht löslich, während die Seifen zur Auflösung erst durch Säuren gespaltet werden müssen. Tropfen und Schollen von Neutralfett färben sich nach Zusatz einer gesättigten, alkoholischen Lösung von Sudan III orange bis blutrot; Fettsäuren und Seifen bleiben dabei ungefärbt.

Eine Vermehrung der Fettmengen im Stuhle findet man bei allen krankhaften Zuständen, bei welchen die Resorption des Nahrungsfettes erschwert ist (Darmschleimhaut-Erkrankungen, Störungen der Gallenabsonderung usw.).

Von **kristallinischen Gebilden** findet man bei der mikroskopischen Untersuchung der Fäces außer den schon erwähnten Fettsäurekristallen noch folgende: Tripelphosphate (Sargdeckel), neutralen phosphorsauren Kalk, Magnesiumphosphat, Kalziumoxalat (Briefkuverts), kohlensauren Kalk, Gipskristalle, Cholesterin, *Charcot-Leyden*sche Kristalle (bei Helminthiasis und Enteritis membranacea).

Von den **pathologischen Produkten der Darmwand** sind besonders zu berücksichtigen:

1. Schleim. Derselbe erscheint im mikroskopischen Bilde als eine strukturlose, durchsichtige Masse, in welcher oft Epithelien, Eiterkörperchen, Kristalle oder Nahrungsreste eingebettet sind. Nach Zusatz von Essigsäure (die Schleimflocke wird mit dem Reagens gründlich durchgemischt) wird eine streifige Fällung der Grundsubstanz sichtbar. Die Anwesenheit von Schleim in den Fäces zeigt fast immer einen pathologischen Zustand der Darmschleimhaut an.

2. Epithelien. Pflasterepithelien kommen sehr selten im Stuhle vor (Erkrankungen des Rektum), häufiger findet man Zylinderepithelien. Sie erscheinen ziemlich selten unverändert, häufiger in sogenannter „verschollter“ Form oder in halbverdautem Zustande. Findet man in kleinen Schleimfetzen nur halbverdaute Epithelien, so ist eine Entzündung des Dünndarms anzunehmen. Verschollte Epithelien stammen meist aus dem Dickdarm. Im allgemeinen zeigt die Anwesenheit

größerer Mengen von Epithelien im Stuhle eine katarrhalische Entzündung der Darmschleimhaut an.

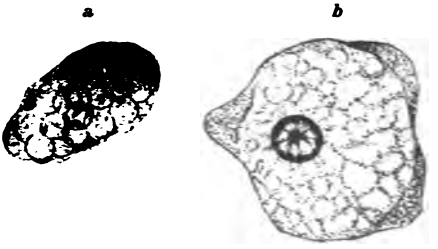
3. Eiterkörperchen. Leukozyten in geringer Anzahl findet man in jeder Schleimflocke. Wenn Eiterkörperchen in großer Menge auftreten, so deutet dies auf ulzeröse Prozesse im Darm hin.

Rote Blutkörperchen erscheinen im Stuhlgange in unverändertem Zustande nur dann, wenn das Blut aus den untersten Abschnitten des Darms stammt und nur kurze Zeit im Darme verweilt hat. Kommt das Blut von den höheren Teilen des Darms, so findet man nur selten sogenannte „Blutschatten", in der Regel aber werden die roten Blutkörperchen nicht mehr nachweisbar sein.

Darmparasiten und deren Eier.

1. Amöben, Nach *Quincke* und *Roos* parasitieren beim Menschen drei Arten Amöben: Amoeba vulgaris, mitis und

Fig. 20.



Amoeba coli (*a* nach *Römer*, *b* nach *Doflein*).

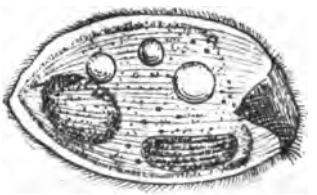
coli s. dysenteriae. In der letzten Zeit wurden die beiden ersten zu einer Art zusammengezogen. Eine pathologische Bedeutung wird nur der Amoeba coli zugesprochen (Fig. 20). Sie ist 10—15 μ groß, zeigt lebhafte Beweglichkeit. Neben Bakterien und Ingesta findet man im Innern dieser Amöben auch rote Blutkörperchen, was bei der Amoeba vulgaris oder mitis nicht vorkommt. Amoeba coli wird von den meisten

Autoren als Erreger der Amöbendysenterie angesehen. Ihre encystierte Form hat eine einfache Kontur, während die encystierten Formen der anderen zwei Arten doppelt konturiert sind.

Es ist notwendig, die Untersuchung der Fäces auf Amöben möglichst bald nach der Entleerung vorzunehmen, da diese Parasiten die Abkühlung schlecht vertragen und schnell verschwinden. Es gelingt in nicht frischen Fäces nur die encystierten Formen zu finden.

2. Infusorien (Fig. 21). Dieselben sind in einer härteren Hülle eingeschlossen; die Oberfläche des Körpers ist mit Geißeln oder Wimpern bedeckt. In den Fäces findet man: Cercomonas intestinalis, Trichomonas intestinalis

Fig. 21.



Balantidium coli (nach *Leuckart*.)

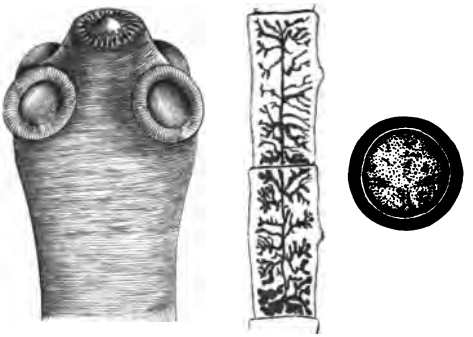
und Balantidium coli. Eine pathologische Bedeutung wird nur dem letzteren zugesprochen. Man findet es nicht selten bei Darmgeschwüren. Ob dieser Parasit nachträglich sich in der ulzerierten Schleimhaut einnistet oder ob er als Ursache der Schleimhautaffektion angesehen werden muß, ist noch nicht festgestellt. Der größte Teil der Autoren bezweifelt seine Pathogenität für den Menschen.

3. Platwürmer (Cestodes).

a) Taenia solium (Fig. 22). Ihre Finne lebt im Schwein. Der Wurm ist 2—3 *m* lang. Der Kopf ist unpigmentiert, hat ein Rostellum, auf welchem 26 Haken in einem Doppelkranz angeordnet sind, und vier Saugnäpfe. Die abgehenden reifen Glieder (Proglottiden) sind ziemlich lang. Der Uterus zeigt nur 7—10 Verzweigungen. Die Eier sind meist rund (selten oval)

und von einer dicken Schale, in welcher man deutliche radiäre Streifung sieht, umgeben. Im Innern des Eies sind nicht selten die Haken des Embryo sichtbar.

Fig. 22.



Taenia solium. Kopf, Proglottide, Ei.

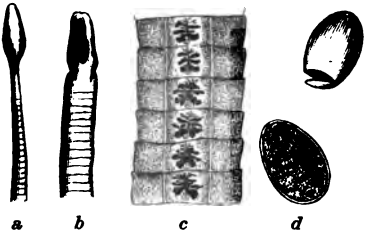
Fig. 23.

Taenia saginata. Kopf, Ei, Proglottide.

b) Taenia saginata s. mediocanellata (Fig. 23). Die Finne bewohnt die Muskulatur des Rindes. Der Wurm ist 4—8 *m* lang. Der Kopf dieser Taeniae hat kein Rostellum und keinen Hakenkranz. Er trägt vier pigmentierte Saugnäpfe. Der Uterus

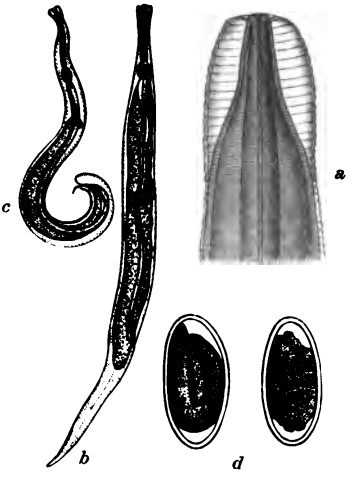
trägt 20—30 Seitenäste. Um dieselben sichtbar zu machen, quetscht man die reifen Proglottiden zwischen zwei Objekt-

Fig. 24.



Kopf des Bothriocephalus latus. *a* von der Fläche, *b* von der Kante gesehen, *c* Proglottiden, *d* Eier.

Fig. 25.

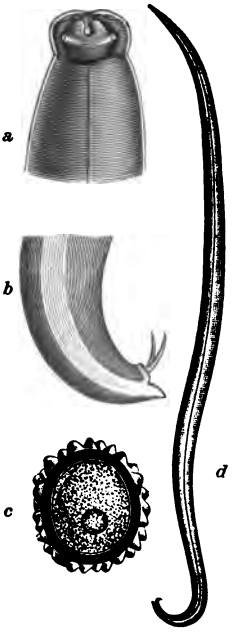


Oxyuris vermicularis. *a* Kopf, *b* weibliches, *c* männliches Tier, *d* Eier.

trägern. Die Eier sind etwas größer als die der Taenia solium, im übrigen aber schwer von denselben zu unterscheiden.

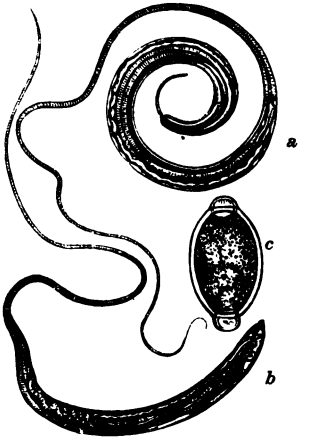
c) **Bothriocephalus latus** (Fig. 24). Die Finne lebt in See- und Süßwasserfischen. Der Wurm ist 6—8 *m* lang. Der längliche Kopf mit sehr langem Hals ist abgeplattet und trägt zwei längliche Saugrinnen. Die Eier sind oval und haben an einem Pol einen Deckel. Beim Austreten des Embryo hebt sich dieser Deckel ab. Die reifen Glieder sind quadratisch und zeigen in der Mitte eine rosettenartige Zeichnung, welche durch den braunen, mit Eiern gefüllten Uterus gebildet wird.

Fig. 26.



Ascaris lumbricoides. *a* Kopf, *b* hinteres Leibesende des Männchens, *c* Ei, *d* männliches Tier.

Fig. 27.



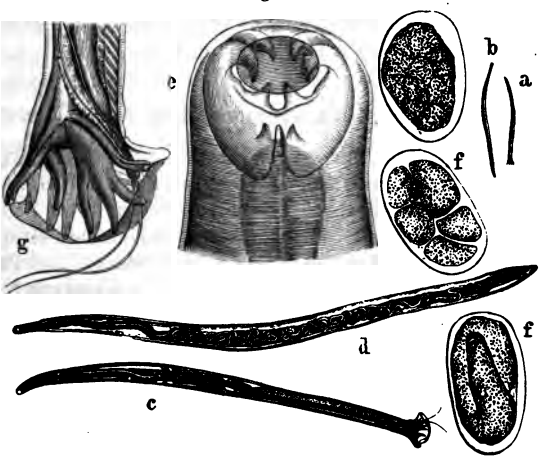
Trichocephalus dispar. *a* männliches, *b* weibliches Tier, *c* Ei.

Zu den seltener vorkommenden Taenien gehören: Taenia nana, Taenia flavopunctata und Taenia cucumerina. Taenia nana kommt häufig in Italien und Ägypten vor, in Deutschland sind nur ganz vereinzelte Fälle beschrieben. Auch Taenia flavopunctata und cucumerina kommen in Deutschland sehr selten vor.

4. Rundwürmer (Nematodes).

a) Oxyuris vermicularis (Fig. 25). Der Wurm macht seinen Entwicklungsgang in den Fäces durch, in die er durch Verschlucken seiner Eier vom Magen aus gelangt. Das Männchen ist 4 *mm*, das Weibchen 10 *mm* lang. Die Eier sind doppelt konturiert und meist mit einer grobkörnigen Masse gefüllt. Zuweilen findet man im Ei den Embryo, in welchem der Darmkanal undeutlich sichtbar ist.

Fig. 28.



Anchylostoma duodenale. *a* männliches Tier (natürliche Größe), *b* weibliches Tier (natürliche Größe), *c* männliches Tier (Loupenvergrößerung), *d* weibliches Tier (Loupenvergrößerung), *e* Kopf, *f* Eier, *g* Hinterende des Männchens.

b) Ascaris lumbricoides (Spulwurm) (Fig. 26). Ziemlich lange Würmer (20—40 *cm*) von zylindrischer Körperform. Die Eier sind rund oder oval, von gelbbrauner Farbe und von einer buckelförmigen Eiweißhülle umlagert.

c) Trichocephalus dispar (Peitschenwurm) (Fig. 27) wird gewöhnlich als ein harmloser Darmparasit angesehen. Nur in der letzten Zeit hat *Metschnikoff* ihm eine Bedeutung beim Entstehen der Entzündung des Blinddarmfortsatzes zu-

gesprochen. Das ganze Tier ist zirka 4 *cm* lang. Die Eier sind leicht an den Deckelchen, welche sich an den beiden Polen befinden, erkennbar. Sie sind doppelt konturiert, bräunlich gefärbt und mit einer granulierten Masse gefüllt.

d) Anchylostoma duodenale (Fig. 28). In den Fäces findet man meist nur Eier, weil die Würmer selbst sich so tief und fest in die Darmwand (Dünndarm) einbohren, daß sie mit dem Stuhle nicht entleert werden. Die Eier sind einfach konturiert, oval und enthalten alle Stadien der Entwicklung des Embryo nebeneinander. Das Männchen ist 10 *mm* lang und hat am Schwanzende zwei Spikula. Das Weibchen ist hinten zugespitzt und 12—18 *mm* lang.

Bakteriologische Untersuchung der Fäces.

Die Fäces besitzen normalerweise eine überaus mannigfaltige Bakterienflora, von deren Formenreichtum das mit verdünntem Karbolfuchsin und das nach *Gram* gefärbte Präparat ein deutliches Bild geben. Es finden sich vor allem zur Bacterium coli-Gruppe gehörige Stäbchen, ferner Bact. lact aërogenes, Subtilis- und Proteusarten, B. faecalis alcaligenes, B. fluorescentes, verschiedene Kokkenarten, Schimmelpilze und Hefezellen. Bei Züchtungsversuchen kommt nur ein verschwindend kleiner Teil dieser Mikroorganismen (etwa 10%) zur Entwicklung. Auf den üblichen Nährböden wachsen in ganz überwiegender Menge Kolibakterien.

Die wichtigsten Krankheitserreger, welche in den Fäces gefunden werden, sind Typhus-, Cholera-, Dysenterie-, Tuberkelbazillen, seltener Strepto- und Staphylokokken, Milzbrand-, Pestbazillen und Bac. pyocyaneus.

Typhusbazillen (Fig. 29).

Der Nachweis der Typhusbazillen im Stuhlgang ist noch immer mit erheblichen Schwierigkeiten verbunden und kann selbst in Fällen, die sich klinisch zweifellos als Typhus dokumentieren, mißlingen. Nicht selten führen erst mehrfach wiederholte, mühselige Untersuchungen zum Ziel. Am meisten Aussicht auf Erfolg bieten noch die typischen diarrhoischen Entleerungen, sei es weil die Krankheitserreger in denselben in größerer

Menge ausgeschieden werden, sei es, daß sie gleichmäßiger darin verteilt sind, während sie im geformten Stuhlgang sich häufig nur in einer einzelnen Flocke finden, in deren Umgebung aber fehlen. Es kann daher im letzteren Falle mehr oder weniger vom Zufalle abhängen, ob überhaupt Typhusbazillen enthaltendes Material zur Aussaat verwandt wird.

Eigenschaften der Typhusbazillen. Morphologische und tinktorielle Eigenschaften. Der Typhusbazillus ist ein kurzes Stäbchen, das sich mit verdünnten Anilinfarbstoffen leicht färbt und sich der *Gram*schen Methode gegenüber negativ verhält. Im hängenden Tropfen zeigt der Typhusbazillus, auf geeigneten Nährböden gezüchtet, lebhafte Beweglichkeit.

Wachstum auf den gewöhnlichen Nährböden. Die Typhusbazillen wachsen auf allen gebräuchlichen Nährböden, am besten bei Körpertemperatur.

Auf Agar bilden sie kleine, feuchte, grauweiße, bei durchfallendem Licht bläulich irisierende Kolonien. Diese sind zarter, kleiner und durchsichtiger als die des Bact. Coli commune.

Auf Gelatine zeigen die oberflächlichen Kolonien meist ein charakteristisches Aussehen: Sie erscheinen zart, irisierend, zackig oder wellig begrenzt, im Innern von zahlreichen verzweigten Furchen durchzogen, die an die Rippen eines Weinblattes erinnern (Weinblattform). Dieses Wachstum ist jedoch keineswegs typisch für Typhusbazillen, da es Koliarten gibt, deren Kolonien das gleiche oder ein ähnliches Bild darbieten. Die Gelatine wird vom Typhusbazillus nicht verflüssigt.

Auf der Kartoffel entwickelt sich ein feiner, farbloser, mit bloßem Auge nicht sichtbarer Überzug. Andrerseits gibt es aber auch Kartoffelarten, auf denen sich besonders bei alkalischer Reaktion ein grauer, schmieriger Belag bildet.

Die Bouillon wird gleichmäßig getrübt.

Wachstum der Typhusbazillen auf speziellen Nährböden. In dem Bestreben, die Isolierung der Typhusbazillen aus Bakteriengemischen speziell bei Züchtungsversuchen aus den Fäces zu erleichtern, sind eine Reihe von

Nährböden angegeben worden, auf denen die Typhusbazillen besonders gegenüber den Kolibakterien augenfällige Differenzen in ihrem Wachstum zeigen. Hier sollen nur die beiden wohl am meisten gebrauchten Nährböden erwähnt werden, der *Conradi-Drigalski*sche Lackmuslaktoseagar und die *Piorkowski*sche Harngelatine (über die Herstellung beider Nährböden vergl. Seite 284 u. 285).

Auf dem *Conradi-Drigalski*schen Nährboden bilden die Typhusbazillen nach 14—24stündigem Verweilen bei 37° kleine glasige, nicht doppelt konturierte, tautropfenähnliche Kolonien von blauer Farbe mit einem Stich in das Violette.

Nur in seltenen Fällen besitzen die relativ großen Kolonien ein mehr trübes Aussehen. Die Bact. coli-Kolonien sind größer als die des Typhus, meist leuchtend rot und undurchsichtig. „Manche Kolonien sind nur hellrot, wenig trübe, andere Koliarten bilden größere, speckig wachsende Kolonien, die von einem rot gefärbten Hof umgeben werden."

Es muß jedoch bemerkt werden, daß auch andere Bakterien beim Wachstum auf diesem Nährboden seine blaue Farbe nicht verändern. Ihre Kolonien unterscheiden sich jedoch häufig durch ihre Größe, deutliche doppelte Konturierung, durch eine matte, trockene Oberfläche von den Typhuskolonien. Hierher gehören B. faecalis alcaligenes, Bakterien aus der Gruppe des Subtilis, Proteus und Fluorescens. Auch die Streptokokkenkolonien, welche sich bei Züchtungsversuchen aus den Fäces oft sehr zahlreich auf diesem Nährboden entwickeln, gleichen in ihrer Farbe vollkommen den Kolonien der Typhusbazillen, sind jedoch bedeutend kleiner als diese.

Der *Conradi-Drigalski*sche Nährboden muß zum Gebrauch vollkommen trocken sein. Man läßt daher die Petrischalen, in welche derselbe in einer Menge von 20—30 cm^3 ausgegossen ist, bevor sie beimpft werden, mindestens noch eine Stunde im Brutschrank mit dem Boden nach oben gekehrt offen stehen.

Auf der Harngelatine zeigen die Typhuskolonien nach etwa 20stündigem Wachstum bei 21·5 bis 22° bei Betrachtung mit schwacher Vergrößerung einen kleinen,

meist oblongen, wasserhellen Kern, der nach Art der Flagellaten an beiden Polen 4—6 Ausläufer besitzt, welche an Länge den zentralen Kern etwa um das 4—6fache übertreffen und häufig spirillenartig angeordnet sind.

Andere Typhuskolonien besitzen überhaupt keinen Kern, sondern erscheinen vollkommen aufgefasert. Dies geschilderte Aussehen bieten die Kolonien besonders auf der dicht bewachsenen ersten Platte dar. Auf der zweiten Platte erscheinen die Typhuskolonien mehr gelblich, rundlich, äußerst fein granuliert und sind von einem zarten Rankenwerk umgeben, das seine Ausläufer meist spiralförmig gewunden in die Gelatine hinausschickt.

Die Bact. coli-Kolonien dagegen sind größer, meist scharfrandig, fein granuliert, gelblich gefärbt und besitzen gewöhnlich keine Ausläufer. Einzelne Koli- und Alkaligenesarten bilden zwar kurze Ausläufer, jedoch erscheinen dieselben in Form plumper Ausstülpungen mit kurzen Stacheln oder schneckenförmig gewundenen Bildungen. Der Unterschied in dem Wachstum der beiden Bakterienarten ist jedoch nicht in allen Fällen so durchgreifend. Einmal können Typhusbakterien auch atypisch wachsen, ferner werden die charakteristischen Kolonieformen nicht nur von Typhuskeimen gebildet, sondern auch einzelne Koliarten liefern Kolonien, welche nur wenig von denen der Typhusbazillen unterschieden sind. Schließlich scheint, wenn auch nur selten, auch bei anderen Keimen das für Typhus charakteristische Wachstum vorzukommen.

Mithin ist auch bei Verwendung der Harngelatine und des *Conradi-Drigalski*schen Nährbodens aus dem Aussehen der Kolonie allein eine Diagnose nicht zu stellen. Vielmehr müssen ebenso wie bei der Züchtung auf gewöhnlichem Agar die verdächtigen Bakterien weiter auf ihre morphologischen und biologischen Eigenschaften geprüft werden. Die Harngelatine und der Lackmuslaktoseagar bieten dem Agar gegenüber den Vorteil, daß sie das Herausfinden der verdächtigen Kolonien erleichtern.

Die differentiell-diagnostisch wichtigen biologischen Merkmale der Typhusbazillen. Beim Wachs-

tum in steriler Milch rufen Typhusbazillen keine Gerinnung derselben hervor, Kolibacillen dagegen in der Regel nach 24—48 Stunden. Bacillus faecal. alcaligenes, Dysenterie- und Paratyphusbazillen zeigen das gleiche Verhalten wie Typhusbazillen.

Beim Wachstum in Lackmusmolke (cf. Seite 285) wird von Typhusbazillen nach 24st. Wachstum wenig Säure, unter 3%, von den Kolibazillen 7% Zehntelnormalsäure und darüber gebildet. Die Typhusröhrchen zeigen daher nur einen leicht rötlichen Farbenton, während die Koliröhrchen hellrot gefärbt werden. Die mit Typhusbazillen besäte Lackmusmolke bleibt ferner vollkommen klar, die Koliröhrchen erscheinen gleichmäßig getrübt. Bacillus faecal. alcaligenes färbt infolge Alkalibildung die Lackmusmolke blau. Dysenteriebazillen verhalten sich wie Typhusbazillen, ebenso der Typus A der Paratyphusbazillen, während Typus B anfangs leicht Säure, nach mehrtägigem Wachstum aber Alkali bildet.

Wachstum in *Barsikow*schem Nährboden (cf. S. 285): In der von *Barsikow* angegebenen Nutrose-Kochsalzlösung mit 1% Traubenzucker rufen Typhus- und Kolibazillen starke Säurebildung und Gerinnung hervor, während die Ruhrbazillen, wenigstens in den ersten Tagen, nur wenig Säure bilden und das Kasein nicht ausfällen. Diese Lösung kann daher zur Unterscheidung der Typhus- von den Ruhrbazillen dienen. Verwendet man anstatt Traubenzucker 1% Milchzucker, so vermag man mit Hilfe dieses Nährbodens Typhus- und Kolibazillen zu differenzieren, während sich Typhus- und Ruhrbazillen gleichmäßig verhalten. Beide lassen die Flüssigkeit unverändert, Kolibazillen bilden Säure und bringen das Kasein zur Ausfällung.

Enthält die *Barsikow*sche Nährlösung je 1% Traubenzucker und Milchzucker, so zeigt nach 24 Stunden:

das Ruhrröhrchen Säurebildung, aber keine Gerinnung,

das Typhusröhrchen Säurebildung und Trübung infolge geringer Kaseinausfällung,

das Koliröhrchen Säurebildung und vollkommene Gerinnung des Kaseins.

Füllt man die 1% Traubenzucker enthaltende Lösung im Gärungskölbchen, so erhält man nach 36stündigem Verweilen bei 37° folgendes Bild:

Ruhrkölbchen Säurebildung

Typhuskölbchen Säurebildung und Gerinnung.

Kolikölbchen Säurebildung, Gerinnung und Gasbildung.

Verhalten in traubenzuckerhaltigen Nährböden: Typhus-, Ruhrbazillen und Bacillus faecalis alcaligenes vermögen Traubenzucker nicht zu vergären, während die meisten Koliarten und beide Typen des Paratyphusbazillus aus Traubenzucker Gas (CO_2) bilden.

Die Prüfung erfolgt durch Stichkultur in 2% Traubenzuckeragar oder durch Überimpfung auf 2% Traubenzuckerbouillon, welche in Gärungskölbchen gefüllt ist.

Wachstum in *Rothberger*schem Neutralrotagar (cf. S. 285): Typhus-, Dysenteriebazillen und Bacillus faecal. alcaligenes wachsen in diesem Nährboden, ohne ihn zu verändern; Bact. coli und Paratyphusbazillen bewirken durch Reduktion des Farbstoffs nach 24—48stündigem Wachstum Entfärbung und grünliche Fluorescenz, sowie Gasbildung infolge des Zuckergehaltes des Nährbodens. Die Prüfung geschieht durch Stichkultur in hochgefüllte Röhrchen oder mittelst Schüttelkultur.

Indolreaktion: Typhusbazillen bilden im Gegensatz zu den meisten Koliarten beim Wachstum in Bouillon oder Peptonwasser kein Indol. Auch Bacillus faecal. alcaligenes, Ruhr- und Paratyphusbazillen vermögen Indol nicht zu produzieren.

Nachweis des Indols: Zu 10 cm^3 einer 48stündigen Bouillon- oder Peptonwasserkultur werden 1 cm^3 0·02% Kaliumnitritlösung und einige Tropfen chemisch reiner, konzentrierter Schwefelsäure zugesetzt. Beim Vorhandensein von Indol tritt Rotfärbung ein. Beim Ausschütteln mit Amylalkohol geht der Farbstoff in diesen über und tritt dadurch deutlicher in Erscheinung.

Es empfiehlt sich, stets zur Kontrolle Röhrchen, welche mit einem authentischen Typhusstamm geimpft sind, und ungeimpfte Röhrchen in den Brutschrank zu stellen.

Biologische Eigenschaften der Typhusbazillen und diffe

Bakterienart	Beweglichkeit	Verhalten		
		Milch	Lackmusmolke	Zuckeragar
Typhusbazillen	beweglich	Keine Gerinnung	Wenig Säure, klar	Keine Vergärung
Bacterium coli	unbeweglich oder schwach beweglich	Gerinnung	Reichlich Säure, trübe	Vergärung
Alkalibildner	beweglich	Keine Gerinnung	Alkali	Keine Vergärung
Dysenterie bazillen	unbeweglich	Keine Gerinnung	Wenig Säure, klar	Keine Vergärung
Paratyphusbazillus A	beweglich	Keine Gerinnung	Wenig Säure, klar	Vergärung
Paratyphusbazillus B	beweglich	Keine Gerinnung	Anfangs Säure, später Alkali	Vergärung

rentiell-diagnostisch in Betracht kommenden Bakterien.

i n				
Neutralrot-agar	*Barsiekow*schen Nährböden			Indolbildung
	1% Trauben-zucker	1% Milch-zucker	1% Trauben-zucker 1% Milch-zucker	
Keine Reduktion Keine Vergärung	Säure-bildung Gerinnung	Keine Säurebil-dung Keine Ge-rinnung	Säure-bildung Trübung	Keine In-dol-bildung
Reduktion Ver-gärung	Säure-bildung Gerinnung	Säure-bildung Gerinnung	Säure-bildung Gerinnung	Indol-bildung
Keine Re-duktion Keine Ver-gärung				Keine In-dol-bildung
Keine Re-duktion Keine Ver-gärung	Wenig Säure Keine Ge-rinnung	Keine Säurebil-dung Keine Ge-rinnung	Säure-bildung klar	Keine In-dol-bildung
Reduktion Ver-gärung				Keine In-dol-bildung
Reduktion Ver-gärung				Keine In-dol-bildung

Gang der Untersuchung der Fäces auf Typhusbazillen.

I. **Die Aussaat der Fäces**: Dünne Entleerungen von breiiger oder flüssiger Konsistenz werden direkt, feste nach Verreibung mit einer kleinen Menge physiologischer, steriler Kochsalzlösung zum Anlegen von Kulturen verwendet.

1. Auf Agar und *Conradi-Drigalski*schem Nährboden werden Oberflächenkulturen angelegt, wobei man sich eines rechtwinklig gebogenen Glasspatels, der durch Abbrennen mit Alkohol desinfiziert wird, oder der gewöhnlichen Platinöse bedienen kann. Man taucht dieselben in das Untersuchungsmaterial ein, verreibt es auf der Oberfläche einer Platte nach allen Richtungen hin und streicht in derselben Weise auf einer zweiten, dritten und vierten Platte aus, ohne die Instrumente vorher abzubrennen oder nochmals mit den Fäces in Berührung zu bringen. Auf diese Weise gewinnt man auf der 3. und 4. Platte isolierte Oberflächenkolonien. Die *Conradi-Drigalski*schen Platten bleiben nach der Aussaat noch einige Zeit offen stehen, bis sie vollkommen trocken geworden sind, um das Ineinanderfließen der sich entwickelnden Kolonien zu verhüten. Die Platten kommen in den Brutschrank bei 37°, wo sie umgekehrt, also mit dem Deckel nach unten, aufgestellt werden.

2. Impfung der Harngelatine: Nach Verflüssigung derselben werden in der üblichen Weise Verdünnungsplatten angelegt: in das erste Röhrchen werden 2 Ösen Fäces geimpft, von diesem 4 Ösen in ein zweites und hiervon 6—8 Ösen in ein drittes Gelatineröhrchen übertragen. Die beimpfte Gelatine wird zu Platten ausgegossen, welche, nachdem der Nährboden auf Eis erstarrt ist, in den auf 21·5—22° eingestellten Brutschrank kommen.

Es empfiehlt sich, von Agar- und *Conradi-Drigalski*schem Nährboden stets mehrere Plattenserien anzulegen.

II. **Untersuchung der Platten.** Am Tage nach der Impfung werden die Platten in folgender Weise geprüft:

1. Agar- und *Conradi-Drigalski*-Platten. Auf den Agarplatten kommen für die weitere Untersuchung nur die

kleinen, durchsichtigen, bläulich irisierenden Kolonien in Betracht, auf den *Conradi-Drigalski*-Platten die kleinen blauen, scharf konturierten, tautropfenähnlichen Kolonien. Von diesen werden mit einer Platinnadel minimale Mengen abgestochen und im hängenden Tropfen geprüft. Handelt es sich um bewegliche Stäbchen vom Aussehen der Typhusbazillen, so wird der Rest der Kolonien zur Gewinnung einer Reinkultur auf schräg erstarrten Agar übertragen. Man kann aber auch sofort die sogenannte orientierende Agglutinationsprobe im hängenden Tropfen vornehmen.

Dieselbe wird in folgender Weise ausgeführt: Mit einer spitzen Platinnadel wird eine ganz geringe Menge der zu prüfenden Kolonie abgestochen und auf einem Deckglase in einem Tropfen eines verdünnten, hochwertigen, durch Immunisierung eines Tieres mit Typhusbazillen gewonnenen Serums aufgeschwemmt. Man benutzt stets ein Multiplum der Titredosis des Serums, und zwar etwa die 5fache Dosis. Liegt z. B. der Grenzwert des Serums bei einer Verdünnung von 1 : 5000, so verwendet man für die orientierende Agglutinationsprobe die 1000fache Verdünnung. Dieselbe wird mit vollkommen klarer, steriler 0·85% Kochsalzlösung hergestellt. Zur Kontrolle müssen von einer verdächtigen Kolonie Aufschwemmungen in der Verdünnungsflüssigkeit und in einem Tropfen normalen Serums derselben Tierart, von der das spezifische Serum stammt, angesetzt werden. Das normale Serum kommt in etwa 10mal stärkerer Konzentration als das Immunserum zur Verwendung. Die Deckgläschen werden auf hohl geschliffene Objektträger gebracht und bei schwacher Vergrößerung betrachtet. Erscheint hierbei der von dem spezifischen Serum stammende Tropfen sofort oder nach einigen Minuten von kleinen Häufchen erfüllt, während die Kontrolltropfen vollkommen homogen bleiben, so ist die Agglutination als positiv zu bezeichnen und die untersuchten Bakterien sind höchstwahrscheinlich Typhusbazillen.

Am nächsten Tage wird von der Reinkultur zur Prüfung der biologischen Eigenschaften der gezüchteten Bakterien auf Lackmusmolke, Milch, Neutralrotagar etc. überimpft, und ferner wird mit demselben die quantitative makroskopische Agglutinationsprobe angestellt (cf. Seite 98).

2. Die Prüfung der Harngelatineplatten erfolgt 16—20 Stunden nach Aussaat. Dieselben werden unter dem Mikroskop bei schwacher Vergrößerung durchmustert. Mit

einer an der Spitze umgebogenen Platinnadel oder der Bakterienharpune werden die verdächtigen Kolonien abgestochen und auf Agarröhrchen überimpft. Am folgenden Tage werden die Reinkulturen in der oben angegebenen Weise geprüft.

Es ist stets notwendig, eine große Reihe verdächtiger Kolonien von den Platten abzustechen und in Reinkultur zu züchten.

Die Bakterien sind als Typhusbazillen identifiziert, wenn sie mit diesen in ihren biologischen Eigenschaften übereinstimmen und von einem hochwertigen Immunserum in hoher Verdünnung agglutiniert werden.

Es muß jedoch bemerkt werden, daß frisch aus dem erkrankten Organismus gezüchtete Typhusbazillen sich mitunter als nicht agglutinabel erweisen und erst nach mehrfacher Überimpfung auf Agar agglutiniert werden. Der negative Ausfall der Agglutinationsprobe spricht daher in solchen Fällen nicht ohne weiteres dagegen, daß die gezüchteten Bakterien Typhusbazillen sind, sobald sie die biologischen Eigenschaften der letzteren zeigen.

Die makroskopische, quantitative Agglutinationsprobe wird in folgender Weise ausgeführt: Von dem Immunserum werden mit 0·85 % steriler, vollkommen klarer, durch ein gehärtetes Filter filtrierter Kochsalzlösung Verdünnungen im Verhältnis von 1—100, 1—200, 1—500, 1—1000 etc. hergestellt. Von diesen Verdünnungen wird je 1 cm^3 zur Anstellung der Probe in ein Reagenzglas gebracht und darin eine volle Öse (etwa 2 *mg*) einer 24stündigen Typhus-Agarkultur aufs sorgfältigste verrieben. Die Kultur wird zuerst an der Wand des Röhrchens oberhalb der Flüssigkeitsgrenze abgestrichen, darauf mit einem Tropfen der Flüssigkeit verrieben, bis alle mit bloßem Auge sichtbaren Klümpchen verschwunden sind und allmählich mit der übrigen Flüssigkeit vermischt, so daß eine gleichmäßige Emulsion entsteht. Die Röhrchen kommen, wenn nicht sofort Agglutination eintritt, auf eine Stunde in den Brutschrank bei 37°. Die Prüfung wird in der Weise vorgenommen, daß das Röhrchen wagerecht über Kopfhöhe gehalten und die Serumverdünnung von unten nach oben in dünner Schicht

angesehen wird. Ist die Agglutination eingetreten, so sieht man die klare Flüssigkeit von kleinen Häufchen erfüllt. Bleiben die Reagenzgläser ruhig stehen, so vergrößern sich die Häufchen allmählich, sinken zu Boden, und die Serumkochsalzmischung erscheint schließlich vollkommen klar. Es ist stets notwendig, Kontrollen mit einer echten Typhuskultur und dem Immunserum, mit normalem Serum derselben Tierart, von der das Immunserum stammt, und der zur Verdünnung benutzten Kochsalzlösung anzustellen. Die beiden letzteren müssen während der Beobachtungszeit gleichmäßig getrübt bleiben.

Paratyphusbazillen. In neuerer Zeit wurden aus dem Blut und den Fäces von Patienten, die ein dem Typhus durchaus ähnliches Krankheitsbild darboten, Bazillen isoliert, die in vielen Eigenschaften mit den Typhusbazillen übereinstimmen und sich hauptsächlich hinsichtlich des Gärungsvermögens von ihnen unterscheiden. Dieselben wurden von *Schottmüller* als Paratyphusbazillen bezeichnet. Sie sind ebenso wie die *Gärtner*schen Bazillen der Fleischvergiftung, denen sie gleichfalls nahe stehen, untereinander nicht vollkommen identisch. Es lassen sich zwei Typen unterscheiden, die als Paratyphus A und B bezeichnet werden. Beide Bakterienarten sind wie die Typhusbazillen beweglich, bringen die Milch nicht zur Gerinnung und bilden kein Indol; im Gegensatz zu den Typhusbazillen vergären beide Zucker und reduzieren Neutralrot. Die beiden Typen unterscheiden sich voneinander durch ihr Wachstum auf Agar, Gelatine, Kartoffeln und Lackmusmolke.

Typus A wächst auf diesen Nährböden ebenso wie die Typhusbazillen, Typus B bildet in Lackmusmolke anfangs leicht Säure, später aber Alkali und gedeiht auf den anderen angeführten Nährmedien üppiger als die Typhusbazillen.

Der Nachweis der Paratyphusbazillen in den Fäces geschieht in derselben Weise wie der der Typhusbazillen. Die Harngelatine ist jedoch zu ihrem Nachweis nicht verwertbar, da die Paratyphusbazillen auf ihr keine Faserform bilden.

Ihre Identifizierung erfolgt auf Grund ihrer biologischen Merkmale und durch die Agglutinationsprobe.

Dysenteriebazillen.

Auf Grund zahlreicher, in den letzten Jahren ausgeführter Untersuchungen kann mit größter Wahrscheinlichkeit angenommen werden, daß der aus den blutigschleimigen Entleerungen Dysenteriekranker zuerst von *Shiga* und zwei Jahre später von *Kruse* gezüchtete Bazillus als der Erreger der hauptsächlich in den Ländern der nördlichen gemäßigten Zone epidemisch auftretenden Ruhr anzusprechen ist.

Von dieser Erkrankung ist die durch Amöben hervorgerufene, jetzt meist als Amöbenenteritis bezeichnete Dysenterieform zu trennen. Dieselbe tritt endemisch in tropischen Ländern auf und unterscheidet sich auch klinisch wesentlich von der epidemischen Ruhr.

Eigenschaften der Dysenteriebazillen. Die Dysenteriebazillen sind Stäbchen, welche etwa die Länge der Typhusbazillen besitzen, aber etwas dicker und plumper erscheinen. Im Gegensatz zu letzeren sind sie unbeweglich. Sie färben sich leicht mit verdünnten Anilinfarbstoffen und verhalten sich der *Gram*schen Methode gegenüber negativ.

Sie wachsen auf allen gebräuchlichen Nährböden. Auf Agar bilden sie ebenso wie die Typhusbazillen runde, flache Kolonien, welche in auffallendem Lichte weißlich, feucht, bei durchfallendem Lichte bläulich irisierend erscheinen.

Auch auf Gelatine gezüchtet, gleichen ihre Oberflächenkolonien nach 48stündigem Wachstum denen der Typhusbazillen, sie zeigen gleichfalls die sogenannte Weinblattform. Die Gelatine wird von ihnen nicht verflüssigt. In ihrem Wachstum auf leicht sauren Kartoffeln und in Bouillon unterscheiden sie sich gleichfalls in keiner Weise von den Typhusbazillen. Auf dem *Conradi-Drigalski*schen Nährboden bilden sie runde, tautropfenähnliche Kolonien, welche eine leicht milchige Trübung zeigen und die blaue Farbe des Nährbodens nicht verändern.

Über die biologischen Eigenschaften der Dysenteriebazillen vergleiche Seite 92—95.

Sie unterscheiden sich von Typhusbazillen durch ihre Unbeweglichkeit und ihr Verhalten in der *Barsikow*schen Lösung,

von Paratyphusbazillen durch ihr Verhalten in Zucker und Neutralrotagar, von Kolibazillen durch ihr Wachstum in Milch, Lackmusmolke, Zuckeragar, Neutralrotagar etc. (cf. Tabelle Seite 94, 95).

Ausschlaggebend für die Identifizierung des Ruhrbazillus ist schließlich die Agglutination mit einem hochwertigen, spezifischen Serum. Die Probe wird nach der oben geschilderten Methode ausgeführt. Da die Agglutination bei den Ruhrbazillen aber langsamer als bei den Typhusbazillen vor sich geht, kommen die geimpften Röhrchen, bevor sie geprüft werden, zunächst 1 Stunde in den Thermostaten bei 37° und dann noch 12 Stunden in den Eisschrank.

Der Nachweis der Ruhrbazillen in den Fäces gelingt meist leicht, so lange die Entleerungen die charakteristische blutig-schleimige Beschaffenheit besitzen. Mitunter führen allerdings erst wiederholte Untersuchungen zum Ziel. Sind die Dejektionen wieder fäkulent, so ist der Nachweis schwierig oder überhaupt nicht mehr ausführbar.

Gang der Untersuchung. Zunächst wird aus einer Schleimflocke ein mit verdünntem Karbolfuchsin gefärbtes Deckglaspräparat hergestellt. In diesem sind die Ruhrbazillen häufig fast in Reinkultur nachweisbar, da sich in der Regel nur wenige Kolibazillen neben ihnen finden. Andere Schleimflocken werden zum Anlegen von Kulturen verwandt; es werden in der üblichen Weise Gelatineplatten gegossen und Oberflächenausstriche auf Agar und *Conradi-Drigalski* schem Nährboden gemacht, wie es bei der Untersuchung der Fäces auf Typhusbazillen geschildert ist. Die Gelatineplatten werden 48 Stunden, die Agarplatten 16—24 Stunden nach der Aussaat geprüft. Von den verdächtigen Kolonien werden Reinkulturen angelegt, die auf ihre biologischen Eigenschaften geprüft und der Agglutinationsprobe mit einem hochwertigen Immunserum unterzogen werden (cf. Untersuchung der Typhusplatten Seite 97).

Cholera (Fig. 30).

Eigenschaften der Choleravibrionen. Die Choleravibrionen sind lebhaft bewegliche, leicht gekrümmte, kurze

Stäbchen, welche mit verdünnten Anilinfarbstoffen (Karbolfuchsin 1 : 10) leicht färbbar sind und sich nach der *Gram*schen Methode entfärben. Man sieht in den aus Reinkulturen gefärbten Präparaten oft mehrere Vibrionen zusammenliegen, die dann Halbkreise oder S-förmige Figuren und besonders in älteren Kulturen auch schraubenartig gewundene Fäden bilden können.

Die Choleravibrionen wachsen leicht auf allen gebräuchlichen Nährböden, besonders wenn dieselben gut alkalische Reaktion zeigen (cf. Seite 283).

Auf Agar bilden sich nach 18- bis 24stündigem Verweilen bei 37° kleine, durchsichtige, bei durchfallendem Licht bläulich irisierende Kolonien, die sich bei Züchtungsversuchen aus den Fäces von den Kolonien der meisten in den Fäces vorkommenden Bakterien durch ihre eigentümliche Transparenz bei auffallendem Licht leicht unterscheiden lassen.

Auf Gelatine zeigen sich die Cholerakolonien nach 24stündiger Züchtung bei 22° dem unbewaffneten Auge als kleinste helle Pünktchen, die sich bei schwacher Vergrößerung als kleine, runde, glänzende Scheiben mit unregelmäßig gebuchteten und welligen Rändern präsentieren. Die Oberfläche der Kolonien ist granuliert und stark lichtbrechend, so daß sie wie mit kleinen Glasstückchen bestreut erscheint. Die Gelatine wird langsam verflüssigt.

In Bouillon wachsen die Choleravibrionen sehr üppig unter gleichmäßiger Trübung derselben und Bildung eines Oberflächenhäutchens.

Milch wird nicht zur Gerinnung gebracht, Blutserum verflüssigt.

Einen überaus günstigen Nährboden für Choleravibrionen wie für Vibrionen überhaupt stellt alkalisches Peptonwasser dar. Wird Untersuchungsmaterial, das neben Cholerabakterien gleichzeitig andere Mikroorganismen enthält, in Peptonwasser übertragen, so findet eine Anreicherung der Vibrionen statt, indem diese sich schneller und reichlicher als die Begleitbakterien in den oberen Flüssigkeitsschichten entwickeln. Schon nach 6stündigem Wachstum bei 37° finden sich häufig die leb-

haft beweglichen, streng aëroben Vibrionen an der Oberfläche der Nährflüssigkeit in Reinkultur.

Fügt man einer 24stündigen Peptonwasser-Kultur der Choleravibrionen einige Tropfen konzentrierter, chemisch reiner Schwefelsäure hinzu, so tritt eine violett-rote Färbung auf, welche beim Ausschütteln mit Amylalkohol in diesen übergeht (Cholerarotreaktion). Diese Farbstoffbildung beruht darauf, daß die Bakterien beim Wachstum in Peptonwasser reichliche Mengen Indols bilden und die in dem Nährsubstrat vorhandenen salpetersauren Salze zu Nitriten reduzieren. Auf Zusatz von Schwefelsäure wird salpetrige Säure frei, die mit Indol den roten Farbstoff bildet (Nitroso-Indolreaktion). Diese Reaktion ist keineswegs, wie man früher glaubte, den Choleravibrionen eigentümlich, sondern wird auch von einer ganzen Reihe anderer Vibrionen hervorgerufen.

Differentialdiagnostisch ist sie jedoch insofern zu verwerten, als sie ein konstantes Kennzeichen der Choleravibrionen ist und infolgedessen ihr negativer Ausfall dagegen spricht, daß die untersuchten Bakterien Choleravibrionen sind. Allerdings muß stets zur Kontrolle geprüft werden, ob eine echte Cholerakultur in dem gleichen Peptonwasser die Rotreaktion gibt.

Das wichtigste Unterscheidungmittel zwischen Cholerabakterien und den anderen ihnen nahestehenden Vibrionenarten, welche auch in den Fäces neben den eigentlichen Krankheitserregern vorkommen können, stellen die serodiagnostischen Methoden dar. Nur diejenigen Vibrionen sind als echte Choleravibrionen anzusehen, welche von einem hochwertigen, durch Immunisierung eines Tieres mit Choleravibrionen gewonnenen Serum in hoher Verdünnung agglutiniert werden und von den spezifischen Bakteriolysinen eines solchen Serums in der Versuchsanordnung des sogenannten *Pfeifer*schen Versuches zur Auflösung gebracht werden.

Das zur Anstellung der Agglutinationsprobe und des *Pfeifer*schen Versuches notwendige Serum ist aus dem Institut für Infektionskrankheiten in Berlin zu beziehen.

Die Agglutinationsprobe wird nach der bei der Untersuchung der Fäces auf Typhusbazillen beschriebenen Methode angestellt.

Der *Pfeifer*sche Versuch beruht darauf, daß bei der Immunisierung eines Tieres mit Choleravibrionen neben den Agglutininen auch bakteriolytische Stoffe im Serum auftreten. Spritzt man ein solches Immunserum zusammen mit Choleravibrionen in die Bauchhöhle eines Meerschweinchens und entnimmt nach 20 Minuten bis 1 Stunde mittelst Glaskapillaren Tröpfchen des Bauchhöhleninhalts, so findet man bei Betrachtung im hängenden Tropfen keine Vibrionen mehr, sondern an ihrer Stelle kleine blasse Kügelchen. Schließlich verschwinden auch diese, die Choleravibrionen sind von den bakteriolytischen Stoffen des Serums vollkommen aufgelöst worden. Dieser Vorgang ist ein streng spezifischer, da die bakterienauflösende Wirkung eines Choleraimmunserums sich nur gegen die Choleravibrionen, aber nie gegen andere Bakterien richtet.

Ausführung des *Pfeifer*schen Versuches.

„Das hierzu verwendete Serum muß möglichst hochwertig sein, mindestens sollen 0·0002 *g* des Serums genügen, um bei Injektion einer Mischung von einer Öse (1 Öse = 2 *mg*) einer 18stündigen Choleraagarkultur von konstanter Virulenz mit 1 cm^3 Nährbouillon die Cholerabakterien innerhalb einer Stunde im Meerschweinchen-Peritoneum zur Auflösung unter Körnchenbildung zu bringen, d. h. das Serum muß mindestens einen Titre von 0·0002 *g* haben.

Zur Ausführung des *Pfeifer*schen Versuchs sind 4 Meerschweinchen von je 200 *g* Gewicht erforderlich.

Tier A erhält das fünffache Multiplum der Titredosis, also 1 *mg* von einem Serum mit Titre 0·0002.

Tier B erhält das zehnfache Multiplum der Titredosis, also 2 *mg* des Serums.

Tier C dient als Kontrolltier und erhält das 50fache Multiplum der Titredosis, also 10 *mg* vom normalen Serum derselben Tierart, von welcher das bei Tier A und B benutzte Serum stammt.

Sämtliche Tiere erhalten diese Serumdosen gemischt mit je einer Öse der zu untersuchenden, 18 Stunden bei 37° auf

Agar gezüchteten Kultur in 1 cm^3 Fleischbrühe (nicht in Kochsalz- oder Peptonlösung) in die Bauchhöhle eingespritzt.

Tier D erhält nur $^1/_4$ Öse Cholerakultur intraperitoneal, um zu erfahren, ob die Kultur für Meerschweinchen virulent ist.

Zur Injektion benutzt man eine Kanüle mit abgestumpfter Spitze. Die Injektion in die Bauchhöhle geschieht nach Durchschneidung der äußeren Haut; es kann dann mit Leichtigkeit die Kanüle in den Bauchraum eingestoßen werden. Die Entnahme des Peritonealexsudates zur mikroskopischen Untersuchung erfolgt mittelst Glaskapillaren gleichfalls an dieser Stelle. Die Betrachtung des Exsudats geschieht im hängenden Tropfen bei starker Vergrößerung, und zwar 20 Minuten und 1 Stunde nach der Injektion.

Bei Tier A und B muß nach 20 Minuten, spätestens nach 1 Stunde typische Körnchenbildung beziehungsweise Auflösung der Vibrionen erfolgt sein, während bei Tier C und D eine große Menge lebhaft beweglicher, auch in ihrer Form gut erhaltener Vibrionen vorhanden sein muß. Damit ist die Diagnose gesichert.

Behufs Feststellung abgelaufener Cholerafälle ist der *Pfeifer*sche Versuch in folgender Weise anzustellen.

Es werden Verdünnungen des Serums des verdächtigen Menschen mit 20, 100 und 500 Teilen der Fleischbrühe hergestellt, hiervon je 1 cm^3 mit je einer Öse einer 18stündigen Agarkultur virulenter Choleravibrionen vermischt, je einem Meerschweinchen von 200 g Gewicht in die Bauchhöhle eingesprizt. Ein Kontrolltier erhält $^1/_4$ Öse der gleichen Kultur ohne Serum in 1 cm^3 Fleischbrühe aufgeschwemmt in die Bauchhöhle eingespritzt.

Bei positivem Ausfall der Reaktion nach 20 beziehungsweise 60 Minuten ist anzunehmen, daß der betreffende Mensch, von welchem das Serum stammt, die Cholera überstanden hat."

(Erlaß des Ministers der geistlichen, Unterrichts- und Medizinal-Angelegenheiten, betreffend Anleitung für die bakteriologische Feststellung der Cholerafälle, vom 6. Nov. 1902.)

Nachweis der Choleravibrionen in den Fäces.

Eine ausführliche Anweisung über die Untersuchung der Fäces auf Cholerabakterien ist in dem erwähnten Erlaß enthalten.

I. Mikroskopische Untersuchung. Es werden Ausstrichpräparate, wenn möglich von einer Schleimflocke, hergestellt und mit verdünnter Karbolfuchsinlösung (1 : 9) gefärbt. In diesen Präparaten finden sich häufig die typischen Kommabazillen in großer Menge oder sogar in Reinkultur; sie zeigen dann eine charakteristische fischzugähnliche Lagerung. In vielen Fällen jedoch finden sich die Krankheitserreger nicht in so großer Menge und sind dann unter den in normaler Weise im Darm so zahlreich vorkommenden Bakterien nicht zu erkennen.

Ferner wird aus einer Schleimflocke ein hängender Tropfen mit Peptonlösung angelegt, sofort und nach $^1/_2$ stündigem Verweilen im Brutschrank bei 37° frisch und gefärbt untersucht. Man sieht dann mitunter, wie die Vibrionen sich am Rande des Tropfens ansammeln.

Die mikroskopische Untersuchung gestattet jedoch in keinem Falle, die Diagnose mit Sicherheit zu stellen, es ist stets das Kulturverfahren heranzuziehen.

II. Gelatineplatten. Mit einer Öse des Untersuchungsmaterials (wenn möglich von einer Schleimflocke) werden 2 aufgeschmolzene Gelatineröhrchen beimpft und in der üblichen Weise zwei Verdünnungen durch Übertragung von je 3 Ösen hergestellt. Die Gelatine wird zu Platten ausgegossen, welche nach 18stündigem Verweilen bei 22° untersucht werden.

III. Agarplatten. Die Agarplatten müssen vollkommen trocken sein. Zu diesem Zwecke werden sie vor der Beimpfung $^1/_2$ Stunde lang bei 37° im Brutschrank mit der Fläche nach unten offen gehalten.

Es wird eine Öse der Fäces oder einer Schleimflocke in derselben Weise, wie bei der Typhusuntersuchung geschildert, nacheinander auf Platten ausgesät. Die Untersuchung der Platten erfolgt nach 12—18stündigem Wachstum bei 37°.

IV. Anreicherung mit Peptonlösung. Es werden 6 Röhrchen mit je 10 cm^3 Inhalt beimpft, in jedes Röhrchen kommt 1 Öse der Fäces zur Aussaat. Sind vermutlich wenig Choleravibrionen in den Dejektionen vorhanden, so wird 1 cm^3 Kot in ein Kölbchen mit 50 cm^3 Peptonlösung über-

tragen. Nach 6- und 12stündigem Verweilen im Brutschrank bei 37° werden, ohne aufzuschütteln, von der Oberfläche der Peptonlösung Proben entnommen und mikroskopisch untersucht. Häufig findet man im Präparat eine Reinkultur von Vibrionen. Von einem Röhrchen, welches am meisten verdächtige Bakterien enthält, werden Gelatine- und Agarplatten angelegt. Wachsen auf diesen noch keine Reinkulturen, so werden die verdächtigen Kolonien abgestochen und auf Agarröhrchen überimpft.

Schließlich werden dann mit den Reinkulturen die Immunitätsreaktionen ausgeführt (Quantitative makroskopische Agglutinationsprobe und *Pfeifer*scher Versuch); denn es ist zu berücksichtigen, daß in Peptonwasser auch choleraähnliche Vibrionen, welche in Fäces vorkommen können, angereichert werden und daß diese auch auf Agar und Gelatine nicht von echten Choleravibrionen zu unterscheiden sind.

Die Diagnose Cholera ist als gesichert anzusehen, wenn sämtliche Untersuchungsmethoden ein positives Resultat ergeben.

In dieser eingehenden Weise sollen stets die ersten Fälle im Beginn einer Epidemie untersucht werden. Im weiteren Verlaufe derselben genügt das Züchtungsverfahren und die orientierende Agglutination im hängenden Tropfen (cf. Seite 97), wenn letztere ein einwandfreies Resultat ergibt.

Tuberkelbazillen.

Der Nachweis der Tuberkelbazillen in den Fäces geschieht mit Hilfe des gefärbten Ausstrichpräparates. Am leichtesten gelingt derselbe in den Schleim- und Eiterflocken, welche sich in den diarrhoischen Entleerungen an Darmtuberkulose Erkrankter finden.

Ist der zu untersuchende Kot geformt, so wird er (nach *Straßburger*) mit Wasser verrieben und zentrifugiert. Die über dem Sediment stehende trübe Flüssigkeit wird abgegossen und mit 96%igem Alkohol verdünnt (2 Teile Untersuchungsflüssigkeit + 1 Teil Alkohol). Dann wird von neuem zentrifugiert und das nun erhaltene Sediment zur Herstellung von Präparaten benutzt.

Bei der Beurteilung des Befundes ist Vorsicht geboten. Abgesehen davon, daß der negative Ausfall der Untersuchung natürlich in keinem Falle gegen die Diagnose Darmtuberkulose spricht, ist bei positivem Befunde daran zu denken, daß die Tuberkelbazillen mit verschlucktem Sputum in den Darm gelangt sein können. Ferner sind auch in den Fäces mehrfach säurefeste Stäbchen gefunden worden, welche keine Tuberkelbazillen waren.

Es handelt sich mit größter Wahrscheinlichkeit um Darmtuberkulose, wenn bei Kranken, welche sicher kein Sputum herunterschlucken, bei wiederholten Untersuchungen reichlich säurefeste Stäbchen vom Aussehen der Tuberkelbazillen gefunden werden.

Staphylokokken und Streptokokken.

Diese Bakterien finden sich in Fäces sowohl als Erreger akuter Darmkatarrhe als auch beim Durchbruch von Eiterung aus der Nachbarschaft in den Darm.

Im ersteren Falle sind die Eitererreger in so großer Menge nachweisbar, daß die normalerweise in den Entleerungen vorhandenen Mikroorganismen vollkommen zurücktreten.

Ihr Nachweis geschieht mit Hilfe des mit verdünntem Karbolfuchsin und nach *Gram* gefärbten Präparates.

Milzbrandbazillen.

In den seltenen Fällen von Darmmilzbrand werden Milzbrandbazillen mit den Fäces ausgeschieden. Ihr Nachweis gelingt mit Hilfe des Kulturverfahrens. Es werden Züchtungsversuche auf Agar und Gelatine gemacht, die charakteristisch aussehenden Kolonien (cf. Seite 254) abgestochen, in Reinkultur gezüchtet und zur Identifizierung auf weiße Mäuse überimpft.

Pestbazillen.

Die Pestbazillen sind in einzelnen Fällen in Darmentleerungen Pestkranker gefunden worden. Ihr Nachweis gelingt mittelst Tierversuches, indem die Fäces in die rasierte Bauchhaut von Meerschweinchen eingerieben werden.

VII. KAPITEL.

Die Untersuchung des Harns.

I. Die Entnahme des Harns.

Man sammelt gewöhnlich die 24stündige Menge in sauberen, mit heißem Wasser ausgespülten Gefäßen. Um die Zersetzung des Harns zu vermeiden, empfiehlt es sich, einen bohnengroßen Kristall Thymol oder 10—20 Tropfen Chloroform zuzusetzen. Wird der Harn trotzdem schnell zersetzt und zeigt eine stark ausgesprochene alkalische Reaktion, so empfiehlt es sich, außer der 24stündigen Menge eine frisch gelassene Portion Urin zur Untersuchung einzuliefern. In manchen Fällen ist es notwendig, verschiedene Fraktionen des Harns getrennt zu untersuchen: bei Nierenaffektionen wird man den Morgenharn und Abendharn, bei leichten Fällen von Diabetes oder alimentärer Glykosurie den Harn vor und nach der Mahlzeit getrennt untersuchen; bei Verdacht auf Bestehen einer physiologischen respektive zyklischen Albuminurie wird man den Harn jeder Entleerung auf seinen Eiweißgehalt untersuchen müssen. Bei Erkrankungen der Harnröhre und der Blase wird zu differentialdiagnostischen Zwecken der Harn einer Entleerung (am besten der erste Morgenurin) in zwei oder drei Gefäße aufgefangen und jede Fraktion getrennt auf ihre physikalische und chemisch-mikroskopische Beschaffenheit untersucht. Die in der letzten Zeit in die Praxis eingeführte Ureterenkatheterisation ermöglicht auch, den Harn jeder Niere zu isolieren und auf diese Weise bei einseitigen Affektionen mit Sicherheit zu bestimmen, welches von beiden harnabsondernden Organen ergriffen ist. Zu demselben Zwecke werden auch die sogenannten Segregatoren-Instrumente, welche in der Blase eine Scheidewand herstellen, angewandt. Die letzte Methode ist aber nicht vollkommen einwandfrei und in den Fällen, in welchen eine Ureterenkatheterisation nicht kontraindiziert ist, wird man diese der Anwendung der Segregatoren vorziehen. Bei der Entnahme des Harns soll in allen

Fällen dafür gesorgt werden, daß keine zufälligen Beimischungen (Sputum, Menstrualblut, Sperma usw.) in den Harn gelangen.

Über die Entnahme des Harns zur bakteriologischen Untersuchung cf. Seite 205.

II. Die Identifizierung einer Flüssigkeit als Harn.

In der ärztlichen Praxis wird es in einzelnen Fällen notwendig sein, eine zur Untersuchung eingelieferte Flüssigkeit mit Sicherheit als Harn identifizieren zu können. Der Arzt wird dazu in manchen Fällen durch den Verdacht einer zufälligen oder absichtlichen Verwechslung seitens des Patienten veranlaßt werden. In anderen Fällen wird die Feststellung einer Flüssigkeit als Nierensekret zu differentialdiagnostischen Zwecken unentbehrlich sein. Das letztere gilt besonders für Punktionsflüssigkeiten, welche aus der Nierengegend gewonnen sind. In solchen Fällen handelt es sich meist um eine Differentialdiagnose zwischen Hydronephrose, cystischen Tumoren oder Echinokokkus.

Um eine Flüssigkeit als Harn anzuerkennen, müssen in derselben einige nur für den Harn allein charakteristische Bestandteile nachgewiesen werden. Von den vielen organischen und anorganischen Bestandteilen des Harns werden Harnstoff und Harnsäure als charakteristische angesehen und ihre gleichzeitige Anwesenheit in einer Flüssigkeit als genügender Beweis zur Anerkennung der betreffenden Flüssigkeit als Nierensekret betrachtet. Gelingt noch der Nachweis eines dritten Bestandteiles des Harns — des Kreatinins —, so ist die untersuchte Flüssigkeit mit Sicherheit als Harn anzuerkennen. Der Nachweis der genannten Bestandteile des Harns geschieht in folgender Weise:

Harnstoff — $CO(NH_2)_2$. Man dampft 25—50 cm^3 der Flüssigkeit in einer Porzellanschale bis zu leichtem Sirup ein. Nach dem Erkalten gibt man einige Kubikzentimeter konzentrierter Salpetersäure zu, wobei ein kristallinischer Niederschlag von salpetersaurem Harnstoff entsteht. Bei der mikroskopischen Untersuchung der kristallinischen Masse sieht man typisch aufeinandergelagerte rhombische Tafeln.

Hat man nur wenig Flüssigkeit, so bringt man einige Tropfen derselben auf einen Objekträger, setzt einen Tropfen Salpetersäure zu und erwärmt vorsichtig über einer kleinen Flamme. Nach dem Erkalten scheiden sich Kristalle von salpetersaurem Harnstoff aus.

Aus dem salpetersauren Harnstoff kann man reinen Harnstoff folgenderweise darstellen:

Man sammelt den kristallinischen Niederschlag auf einem Filter, preßt ihn zwischen Filtrierpapier und löst in einer geringen Menge Wasser. Dann zerlegt man den salpetersauren Harnstoff mit kohlensaurem Baryt, zieht aus der getrockneten Masse den Harnstoff mittelst absoluten Alkohols aus und entfärbt die Flüssigkeit mit Tierkohle. Aus der farblosen, durch Erwärmen konzentrierten, alkoholischen Lösung kristallisiert der Harnstoff beim Erkalten in Nadeln aus. Für den reinen Harnstoff ist charakteristisch die Biuretreaktion: man erhitzt einige Kristalle in einem trockenen Reagenzglas vorsichtig, bis sie geschmolzen sind; es entsteht dabei Ammoniak und Biuret (Amid der Allophansäure), welches in Wasser gelöst die Biuretreaktion in typischer Weise gibt (über die Ausführung der Biuretreaktion cf. Seite 127).

Harnsäure — $C_5H_4N_4O_3$. 50—100 cm^3 Harn werden durch Zusatz von Salzsäure stark sauer gemacht. Nach mehrstündigem (12—24) Stehen scheidet sich die Harnsäure in Gestalt gelbbraun gefärbter Kristalle ab. Man sammelt die Kristalle auf einem kleinen Filter, wäscht sie mit kaltem Wasser mehrmals aus, bringt einen Teil auf ein Porzellanschälchen und führt die Murexidprobe aus: Man gibt 2 bis 3 Tropfen konzentrierter Salpetersäure zu, erhitzt vorsichtig auf einer kleinen Flamme, bis die Salpetersäure verdampft ist. Der trockene Rückstand färbt sich mit einem Tropfen Natron- oder Kalilauge violett, mit Ammoniak purpurrot.

Kreatinin — $C_4H_7N_3O$. Man versetzt 10—15 cm^3 Harn mit einigen Tropfen einer frisch bereiteten, verdünnten Natriumnitroprussidlösung und fügt tropfenweise verdünnte Natronlauge hinzu. Wenn Kreatinin zugegen ist, so nimmt die Flüssigkeit eine schön rubinrote Farbe an, die sich nur kurze Zeit (in verdünnten Lösungen nur wenige Minuten) hält; allmählich geht die rote Farbe in eine strohgelbe über. Behandelt man die gelb gewordene Flüssigkeit mit Eisessig

dieselben bilden bekanntlich einen sehr häufigen Befund und scheiden sich beim Stehen als ziegelmehlartiges Sediment (Sedimentum lateritium) aus. Wenn diese uratische Trübung sich mit andersartigen kombiniert (meist zelligen Elementen), so erzielt man beim Erwärmen keine vollkommene Aufklärung, sondern nur eine leichte Aufhellung der Flüssigkeit, die sogar bei fortgesetzter Erhitzung einer erneuten Trübung (durch Ausfallen von Eiweiß) Platz machen kann.

b) Hat das Erwärmen keine Veränderung in der Trübung hervorgerufen, so versetzt man den Urin mit 10—15 Tropfen Essigsäure. Bewirkt dies eine völlige oder teilweise Aufklärung, so ist die Trübung hauptsächlich durch phosphorsaure Salze bedingt. Der Harn wird sehr oft nicht vollkommen klar, weil es sich in solchen Fällen meist um alkalisch reagierende und in Zersetzung begriffene Harne handelt, welche außerdem meist noch zahlreiche Bakterien oder zellige Beimischungen enthalten. Hat auch Essigsäure keinen Einfluß, so wird

c) Salzsäure zugesetzt; verschwindet jetzt die Trübung, so war dieselbe von oxalsaurem Kalk bedingt.

d) Blieb die Trübung nach der Anwendung dieser drei Proben unbeeinflußt, so wird der Urin zunächst mit Natronlauge (10%ige Lösung) versetzt und geschüttelt. Wenn dabei an Stelle der Trübung gelatinöse Transparenz auftritt, so war Eiter die Ursache der Trübung (Eiterprobe von *Donné*). Diese Probe beruht auf der Eigentümlichkeit der Eiterkörperchen, unter dem Einflusse von Alkali aufzuquellen und eine zusammenhängende gallertige Masse zu bilden.

e) Ist die Trübung durch Fett bedingt, so klärt sich nach Zusatz von Alkohol-Äther der Urin vollkommen auf.

Wenn die Trübung des Urins allen genannten Prozeduren widersteht, so handelt es sich höchstwahrscheinlich um eine bakterielle Trübung. In solchen Fällen ist der Urin gleichmäßig getrübt: er bildet beim Stehen kein augenmerkliches Sediment und bleibt auch meist nach mehrfachem Filtrieren trübe. Bringt man einen derartigen Harn in ein Reagenzglas und betrachtet ihn bei durchfallendem Lichte, so kann man bemerken, daß beim leichten Aufschütteln die Trübung einen schillernden, wellenartigen Charakter besitzt.

3. **Reaktion.** Die Reaktion des Harns kann sauer, amphoter oder alkalisch sein. Der normale Urin reagiert meist sauer. Seine Azidität ist nicht durch die Gegenwart freier Säure, sondern durch sauer reagierende Salze, hauptsächlich durch zweifach-saures phosphorsaures Natrium (Mononatriumphosphat) bedingt. Außer den sauren Phosphaten sind im normalen Urin auch alkalisch reagierende Phosphate vorhanden. Ihre Menge ist gewöhnlich im Vergleich mit den Säuren nur gering und dadurch kommt nur die saure Reaktion zum Vorschein.

Sind die alkalisch reagierenden Phosphate vermehrt, so entsteht eine amphotere oder alkalische Reaktion. Als amphotere bezeichnet man die Reaktion dann, wenn der Urin gleichzeitig alkalisch und sauer reagiert, das bedeutet, daß die sauer und alkalisch reagierenden Phosphate im Urin in solchem Mengenverhältnisse vorhanden sind, das sie mit gleicher Kraft ihre Reaktion äußern. Alkalische Reaktion entsteht im Harne bei vorwiegendem Gehalt an basischen Phosphaten.

Bei pathologischen Zuständen oder beim Stehen in unreinen Gefäßen kann der Harn eine alkalische, durch Zersetzung hervorgerufene Reaktion erhalten. Die alkalische oder ammoniakalische Gärung des Urins besteht in einer Umwandlung des Harnstoffes in kohlensaures Ammon, welche durch Mikroorganismen (Mikrokokkus Ureae, Proteus vulgaris Hauseri und andere) herbeigeführt wird. Der Harn bekommt dabei einen unangenehmen ammoniakalischen Geruch und trübt sich durch Ausscheidung von phosphorsauren alkalischen Erden, phosphorsaurer Ammoniak-Magnesia, harnsaurem Ammon und kohlensaurem Kalk.

Man bestimmt die Reaktion des Urins in üblicher Weise mittelst Lackmuspapier. Bei saurer Reaktion färbt sich das blaue Lackmuspapier rot, bei alkalischer das rote blau, bei amphoterer sind gleichzeitig beide Reaktionen gleichmäßig ausgesprochen. Bei ammoniakalischer Zersetzung des Urins verschwindet die blaue Farbe des Lackmuspapierchens beim Trocknen an der Luft. Außerdem charakterisiert sich ein ammoniakalischer Urin dadurch, daß ein darüber gehaltener, mit Salzsäure benetzter Glasstab weiße Nebel bildet (Salmiak).

4. **Spezifisches Gewicht.** Das spezifische Gewicht des Harns schwankt unter physiologischen Verhältnissen in weiten Grenzen zwischen 1·005—1·030 und ist in erster Linie von der Wasserzufuhr und Wasserabgabe durch andere Organe abhängig.

Man bestimmt am einfachsten das spezifische Gewicht mittelst zweier Spindelaräometer mit Teilungen von 1000 bis 1025 und 1025 bis 1050. Ein ziemlich weites Zylinderglas wird bis $^4/_5$ mit dem zu untersuchenden Urin gefüllt, die abgetrocknete Spindel darin vorsichtig eingesenkt.* Man liest dann an der Skala den Grad ab, bis zu welchem die Spindel einsinkt. Ist die Spindel zu tief (über die Skala) eingesunken oder taucht sie nicht bis zur Skala ein, so muß das spezifische Gewicht mit der zweiten Spindel bestimmt werden. Bei genaueren Bestimmungen muß die Temperatur berücksichtigt werden. Die Spindelaräometer sind gewöhnlich auf 15° C geeicht. Ist die Temperatur des Urins höher, so muß für je 3 Temperaturgrade ein Grad (0·001) dem abgelesenen Werte zugegeben, bei Temperaturen unter 15° C in derselben Weise abgezogen werden.

Aus dem spezifischen Gewicht des Harns kann annähernd die Gesamtmenge der festen Bestandteile berechnet werden. Nach *Haeser* multipliziert man zu diesem Zweck die letzten zwei Stellen des auf 3 Dezimalen bestimmten spezifischen Gewichts mit 0·233. Ist das spezifische Gewicht eines Harns zum Beispiel 1.025, so sind in demselben $25 \times 0{\cdot}233 = 5{\cdot}825\%$ feste Bestandteile vorhanden.

5. **Der Gefrierpunkt des Harns.** Schon im XVIII. Jahrhundert (1788) hat *Blagden* nachgewiesen, daß zwischen den Temperaturen, bei welchen Salzlösungen erstarren, und dem Gehalt dieser Lösungen an gelösten Stoffen eine einfache Beziehung existiert, und zwar, daß beide proportional sind. Diese Arbeit ist aber völlig in Vergessenheit geraten. Erst als *Raoult* und *van 't Hoff* für diese Tatsache einfache Gesetze gefunden hatten, wurde sie wissenschaftlich verwertet. Diese Gesetze lauten: *1. äquimolekulare Lösungen,* d. h. solche Lösungen, deren Gehalt im Verhältnis der Molekulargewichte der gelösten Stoffe steht, *haben gleiche Gefrierpunkte.*

---

* Die nicht selten störenden Schaumbläschen werden mit Fließpapier entfernt.

Beispiel: Das Molekulargewicht des Traubenzuckers ($C_6H_{12}O_6$) beträgt 180, des Harnstoffs (CON_2H_4) 60. Eine Lösung, welche 180 *g* Traubenzucker im Liter enthält und eine Lösung, welche 60 *g* Harnstoff im Liter enthält, werden einen gleichen Gefrierpunkt zeigen. Daraus folgt, daß der Gefrierpunkt nicht (wie das spezifische Gewicht) von der Masse der gelösten Stoffe, sondern von der Zahl der gelösten Moleküle bedingt wird und daher als Maß für die molekulare Konzentration der Lösung betrachtet werden kann. *2. Der Gefrierpunkt der Lösung ist dem osmotischen Druck derselben proportional.*

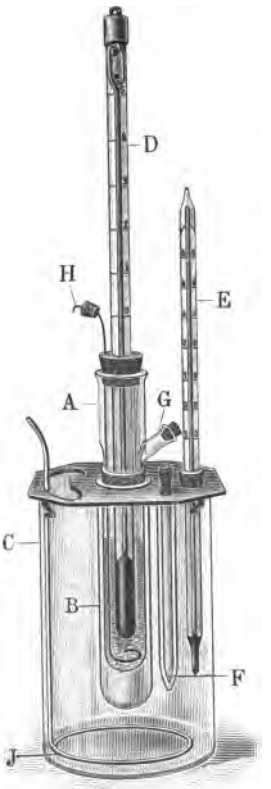
In der Klinik ist die Bestimmung des Gefrierpunktes des Harns und des Bluts zuerst durch *v. Koranyi* eingeführt worden und hat in kurzer Zeit eine ziemlich ausgiebige Verwendung besonders bei der funktionellen Nierendiagnostik gefunden.

Zur praktischen Ausführung der Bestimmung des Gefrierpunkts des Harns dient am besten der *Beckmann*sche Apparat (Kryoskop).* Der Apparat besteht aus folgenden Teilen: Das Glas *A* (Fig. 31) enthält ein in 0·01 Grade geteiltes Thermometer *D* und einen aus Platinadraht gebogenen Rührer *H*. Dieses Glas ist in ein etwas weiteres Glas *B*, welches als Luftmantel dient, gesetzt. Letzteres ist im Deckel eines starken großen Gefäßes *C* befestigt. Im Deckel des großen Glases sitzen noch außerdem 1. ein gewöhnliches Thermometer zur Bestimmung der Temperatur der Kältemischung, 2. ein Röhrchen mit dem Impfstift *F*. Mittelst des starken Rührers *I* wird die Temperatur der Kältemischung gleichmäßig erhalten. Die Ausführung der Gefrierpunktsbestimmung des Harns geschieht folgendermaßen: Das Gefäß *C* wird mit einem Gemisch von Wasser, Eis und Kochsalz bis zu drei Viertel gefüllt. Die Temperatur der Kältemischung darf nicht niedriger als —5 bis —6° C sein. In das Gefäß *A* bringt man den zu untersuchenden Harn. Die Menge desselben soll so groß sein, daß sie gerade ausreicht, das Quecksilberreservoir des Thermometers *D* vollkommen zu umgeben. Um ein gleichmäßiges Erkalten des Harns zu erreichen, wird die Kältemischung

* In der letzten Zeit sind verschiedene vereinfachte Apparate für den klinischen Gebrauch vorgeschlagen. Die Vereinfachungen sind aber leider stets auf Kosten der Genauigkeit erfolgt.

und der Harn mittelst der Rührer *H* und *I* stets umgerührt. Der Moment des Erstarrens des Harns wird dadurch gekennzeichnet, daß die bisher sinkende Quecksilbersäule des Thermo-

Fig. 31.



meters plötzlich in die Höhe steigt und auf einem Punkte stehen bleibt. Dieser Stand des Thermometers wird mittelst einer Lupe abgelesen.

Das Steigen der Quecksilbersäule wird dadurch bedingt, daß die Flüssigkeit vor dem Erstarren immer ein wenig überkältet wird und das Thermometer daher unter den Gefrierpunkt fällt. Sobald die Flüssigkeit erstarrt, wird sie auch gleichzeitig bis zur Temperatur des Gefrierpunkts erwärmt, und daher das Steigeu der Quecksilbersäule bis zum Gefrierpunkt. Es passiert nicht selten, daß ungeachtet der starken Überkältung der Flüssigkeit dieselbe nicht erstarrt. In solchen Fällen bedient man sich des Impfstiftes *F*, mittelst welchem man durch das Seitenröhrchen *G* ein Stückchen Eis in die Flüssigkeit hineinbringt. Das Erstarren erfolgt sofort in dem Moment, wo das Eis mit dem Harn in Berührung kommt. Da das *Beckmann*sche Thermometer keinen konstanten Nullpunkt besitzt, so muß derselbe durch Bestimmung des Gefrierpunktes des destillierten Wassers festgestellt und oft kontrolliert werden; letzteres gilt auch für diejenigen Apparate, welche konstante Nullpunkte haben, weil, wie die Erfahrung zeigt, auch in denselben mit der Zeit die Nullpunkte bedeutend verschoben werden und mit den auf der Skala bezeichneten nicht mehr übereinstimmen.

6. **Menge.** Die Tagesmenge (24stündige) des Urins ist schon unter physiologischen Bedingungen eine äußerst variable Größe. Wasserzufuhr und Wasserausscheidung durch die Haut und Lungen, Genuß von diuretisch wirkenden Mitteln (Alkohol, Tee, Kaffee), Muskeltätigkeit, psychische und andere Momente beeinflussen sehr bedeutend die Harnsekretion und wirken dadurch auf die Größe der in 24 Stunden ausgeschiedenen Urinmenge. Durchschnittlich beträgt sie bei einem gesunden Manne 1500 cm^3, bei Frauen etwas weniger.

Normalerweise steht die Menge des Urins im umgekehrten Verhältnisse zu seinem spezifischen Gewicht. Zur Bestimmung der Tagesmenge sammelt man gewöhnlich den Urin in einem großen Glasgefäße, schüttelt gut durch und mißt das Volumen in einem graduierten Meßzylinder. Um die Zersetzung des Urins durch Bakterien zu vermeiden, empfiehlt es sich, ein erbsengroßes Stückchen Thymol demselben zuzufügen. Das Gewicht des Urins läßt sich sehr einfach aus dem gemessenen Volumen umrechnen, indem man das letztere mit

dem spezifischen Gewicht multipliziert. 1500 cm^3 Urin z. B. vom spezifischen Gewicht 1·025 würden $1500 \times 1{\cdot}025 = 1537{\cdot}5\,g$ wiegen.

IV. Die chemische Untersuchung der pathologischen und abnormen Bestandteile des Harns.

1. Eiweißkörper im Harn.

Der normale Urin ist eiweißfrei. Die ganz geringen Mengen von Eiweiß, welche aus großen Urinmengen sich gewinnen lassen, kommen bei der klinischen Harnuntersuchung nicht in Betracht, da sie durch die gewöhnlichen Eiweißreaktionen nicht nachweisbar sind. Bei abnormen und pathologischen Zuständen kann der Harn folgende Eiweißarten enthalten:

a) Serumalbumin, *b)* Serumglobulin, *c)* Albumosen und Peptone, *d)* Fibrin, *e)* Nukleoalbumin. Diese Eiweißstoffe unterscheiden sich durch folgende allgemeine chemisch-physikalische Eigenschaften:

Serumalbumin ist löslich in Wasser, verdünnten Salzlösungen und gesättigten Lösungen von Chlornatrium und Magnesiumsulfat. Wird gefällt mit Ammoniumsulfat; Gerinnungstemperatur 72—75°. Durch konzentrierte Mineralsäuren wird es ausgeschieden unter Umwandlung in Azidalbumin, nicht aber durch verdünnte; durch Alkalien wird es in Alkalialbuminat umgewandelt. Das Azidalbuminat ist in Essigsäure löslich.

Serumglobulin. Unlöslich in Wasser, löslich in verdünnten Salzlösungen und unlöslich in konzentrierten Lösungen von Chlornatrium, Magnesiumsulfat und Ammonsulfat. Wird durch Hitze koaguliert (bei 75°).

Die Albumosen sind Zwischenprodukte bei der hydrolytischen Zersetzung der Proteine (die Endprodukte derselben sind die Peptone). Sie entsprechen dem Propepton und teilweise dem Pepton im Sinne *Brückes*. Sie werden durch Hitze nicht koaguliert. Sie geben bei der Biuretreaktion eine rosenrote Färbung. Man unterscheidet (nach ihrer Löslichkeit) drei Arten von Albumosen:

a) Protalbumosen. Löslich in heißem und kaltem Wasser und in Salzlösungen. Sie werden gefällt durch Sättigung mit Chlornatrium und Magnesiumsulfat.

b) Heteroalbumosen. Unlöslich im Wasser, löslich in 0·5—15%iger Kochsalzlösung in der Kälte. Beim Erwärmen auf 65° C werden sie ausgefällt; der Niederschlag löst sich in verdünntem Alkali oder verdünnter Säure. Die Proto- und Heteroalbumosen werden häufig als primäre Albumosen bezeichnet.

c) Deuteroalbumosen (sekundäre Albumosen). Löslich in kaltem und heißem Wasser, werden durch Sättigung mit Kochsalz und Magnesiumsulfat nicht ausgefällt, wohl aber durch Sättigung mit Ammonsulfat.

Fibrin ist unlöslich in Wasser sowie in verdünnten Säuren und Alkalien. Durch die letzteren wird es in der Kälte in eine Gallerte verwandelt, die bei längerem Kochen sich auflöst.

Nukleoalbumin ist in Essigsäure unlöslich und wird aus seinen Lösungen durch dieselbe ausgefällt. Nukleoalbumin ist phosphorhaltig.

2. Nachweis des Eiweißes im Harn.

Man unterscheidet zwei Arten von Albuminurien: eine akzidentelle oder falsche Albuminurie (Albuminuria spuria) und eine echte oder renale Albuminurie (Albuminuria vera). Die erstere entsteht durch Beimischung von eiweißhaltigen Flüssigkeiten, wie Blut, Eiter, Chylus, zum eiweißfrei sezernierten Harn. Die renale Albuminure wird durch parenchymatöse Veränderungen in der Niere oder durch Zirkulationsstörungen in derselben hervorgerufen.

Bei beiden Arten der Albuminurie besteht das Eiweiß des Harns stets aus einem Gemisch von Serumalbumin und Serumglobulin. Da diese beiden Eiweißkörper die gleichen Reaktionen geben und für klinische Zwecke ihre Trennung belanglos ist, so werden bei den im nachstehenden mitgeteilten Eiweißprüfungen immer Albumin und Globulin zusammen bestimmt.

Die Prüfung des Harns auf Eiweiß muß mit großer Sorgfalt ausgeführt werden, da jede, auch die geringste nachweisbare Eiweißmenge eine diagnostische Bedeutung hat.

Der auf Eiweiß zu untersuchende Harn muß:

1. vollkommen klar sein,
2. sauer reagieren,
3. frei von eiweißhaltigen, nicht aus den Harnwegen oder von anderen Sekreten stammenden Verunreinigungen (Menstrualblut, Sputum) sein.

Die im Harn suspendierten Salze, Bakterien oder Formelemente werden durch Filtrieren beseitigt. Gelingt es durch Filtration nicht, den Urin klar zu machen, so versetzt man ihn mit Magnesia usta oder Baryumkarbonat oder Kieselgur, schüttelt gut durch und filtriert. Die Trübung wird vom Niederschlag zurückgehalten und man bekommt ein klares Filtrat. In Harnen, in welchen die Trübung durch ausgefallene Urate verursacht ist, gelingt es am leichtesten, durch schwaches Erwärmen den Harn klar zu machen.

Von den zahlreichen zum Nachweis von Eiweiß im Urin empfohlenen Reaktionen sollen im nachstehenden nur diejenigen erwähnt werden, welche sich als zuverlässig und brauchbar in der Praxis bewährt haben.

1. Probe nach *Heller* mit Salpetersäure. Man gießt 5—10 cm^3 Salpetersäure in ein Reagenzglas oder, was bequemer ist, in ein kleines konisches Gläschen (Kognakgläschen), hält dasselbe schief und überschichtet aus einer Pipette die Salpetersäure vorsichtig mit einem gleichen Volumen Harn. Die Überschichtung muß langsam und vorsichtig gemacht werden (man läßt die Flüssigkeit aus der Pipette an der Wand ablaufen), so daß beide Flüssigkeiten sich nicht mischen. Bei Anwesenheit von Eiweiß bildet sich an der Grenze beider Flüssigkeiten eine scharf begrenzte ringförmige Trübung. Bei ganz geringen Mengen von Eiweiß bildet sich der Ring erst nach 2—3 Minuten. Die Probe beruht auf der Eigenschaft der Salpetersäure, am schnellsten Azidalbumine, welche im Überschusse der Säure schwer löslich sind, zu bilden.

Bei dieser Probe sind folgende Fehlerquellen zu beachten.

a) In sehr konzentrierten Harnen bekommt man an der Berührungsstelle der Flüssigkeiten einen deutlich kristallinischen Ring, welcher aus salpetersaurem Harnstoff besteht. Bei gewisser Aufmerksamkeit wird es sehr leicht sein, diesen deutlich kristallinischen Ring vom opaken, scharf begrenzten Eiweißring zu unterscheiden. Ausserdem wird diese Ausscheidung von salpetersaurem Harnstoff durch Verdünnung des Urins leicht beseitigt.

b) In viel harnsaure Salze enthaltenden Urinen entsteht ebenfalls eine ringförmige Trübung, die sich aber dadurch vom Eiweißring unterscheidet, daß sie sich oberhalb der Berührungsstelle befindet und beim gelinden Erwärmen verschwindet.

c) Nach innerlicher Anwendung von balsamischen Präparaten (Kopaiva, Tolubalsam, Ol. Santali) entsteht ein weißlicher, von Harzsäuren herrührender Ring. Er unterscheidet sich vom Eiweißring dadurch, daß er oben nicht scharf begrenzt ist und sich in Alkohol löst.

d) Nukleoalbuminhaltige Urine zeigen bei der *Heller*schen Probe eine ringförmige Trübung. Der Ring befindet sich aber nicht an der Berührungsstelle, sondern in der Urinschicht fast in der Mitte derselben; beim Umschütteln löst sich der Ring wieder auf.

e) Da die Salpetersäure die Harnfarbstoffe oxydiert, so bilden sich bei dieser Probe in jedem Harn farbige Ringe (rote, bräunliche, blaue, grüne), welche niemals mit den Eiweißringen verwechselt werden können, da bei ihnen die Trübung vollkommen fehlt.

Die Probe gibt noch ein positives Resultat bei Verdünnungen von 1 : 30.000, d. h. sie zeigt noch 0·033‰ Eiweiß. Bei diesem Eiweißgehalt entsteht der Ring erst nach 2 Minuten. Sind die obengenannten Fehlerquellen berücksichtigt, so ist die Probe sehr genau und zuverlässig.

2. Kochprobe mit Kochsalz und Essigsäure. Man versetzt 5—8 cm^3 Urin im Reagenzglas mit einem gleichen Volumen gesättigter Kochsalzlösung, fügt 3—5 Tropfen Essigsäure hinzu und erwärmt bis zum Kochen. Entsteht eine Trübung oder Niederschlag, so ist Eiweiß vorhanden. Um ganz geringe

Trübungen bei dieser Probe unterscheiden zu können, empfiehlt es sich, gleichzeitig zwei Reagenzgläser mit dem Urin und den Reagenzien in gleicher Weise zu füllen und nur eine Probe zu kochen. Die andere wird zum Vergleich dienen. Betrachtet man nämlich beide Proben bei durchfallendem Lichte auf einem dunklen Fond, so wird die geringste Trübung in der gekochten Probe deutlich sichtbar sein. Bei großem Gehalt an Eiweiß erhält man schon in der Kälte nicht selten einen Niederschlag, weil die Eiweißkörper durch Essigsäure in Azidalbumine umgewandelt und diese durch Kochsalz und Essigsäure ausgefällt werden. Harzsäuren werden bei dieser Probe auch ausgefällt und werden durch Zusatz von Alkohol aufgelöst.

Diese Probe ist empfindlicher als die *Heller*sche und hat in Vergleich mit anderen Kochproben den Vorteil, daß die Farbe des Urins bei ihr unverändert bleibt und daher die geringste Trübung sichtbar wird, besonders wenn man zum Vergleich den ungekochten und mit denselben Reagenzien versetzten Urin nimmt. Für die Praxis ist sie besonders zu empfehlen, weil sie im Notfall auch ohne chemisches Besteck mit gewöhnlichem Essig und Küchensalz in einem eisernen Löffel ausgeführt werden kann.

3. Probe mit Sulfosalizylsäure (Salizylsulfonsäure). 5—10 cm^3 filtrierten Urins versetzt man mit 5—10 Tropfen einer 20%igen Sulfosalizylsäurelösung. Bei geringen Eiweißmengen entsteht eine Opaleszenz, bei größeren eine deutliche Trübung oder ein weißlicher, flockiger Niederschlag. Der Urin muß stets sauer reagieren; alkalische oder amphotere Harne werden mit Essigsäure leicht angesäuert. Harnsäure, harnsaure Salze werden bei dieser Probe nicht ausgefällt.

Albumosen (außer Deuteroalbumosen) werden gefällt, lösen sich aber beim Erhitzen vollkommen auf, während der Eiweißniederschlag dabei unverändert bleibt.

Harzsäuren verhalten sich bei dieser Probe ebenso wie bei den vorigen.

Die Probe ist sehr empfindlich. Eiweißmengen von 0·015‰ geben noch ein positives Resultat. Um eine geringe Opaleszenz feststellen zu können, betrachtet man die Probe im durch-

fallenden Lichte auf schwarzem Untergrunde und vergleicht sie unter denselben Bedingungen mit einem Reagenzglas, welches eine gleiche Menge des klaren, filtrierten Harns enthält.

Auf Grund zahlreicher Harnuntersuchungen können wir diese Probe als zuverlässige und empfindliche empfehlen.

4. Probe nach *Spiegler* und Modifikation derselben nach *Jolles*.

Spieglers Reagens besteht aus:

Sublimat	8·0
Acidi tartarici	4·0
Glyzerin	20·0
Aquae dest.	200·0

Wird der mit Essigsäure stark angesäuerte Urin mit dem Reagens unterschichtet, so bildet sich bei Eiweißgehalt ein weißlicher Ring. Die Probe ist sehr empfindlich und zeigt sogar Mengen von 0·002‰, gibt aber leider nicht immer eindeutige Resultate, da die Empfindlichkeit der Reaktion von der Menge der im Harne enthaltenen Chloride abhängig ist. Bei geringem Kochsalzgehalt ist die Probe weniger empfindlich. Um diesen Übelstand zu beseitigen, wurde von *Jolles* folgendes Reagenzgemisch vorgeschlagen:

Sublimati	10·0
Ac. succinici	20·0
Natri chlorati	10·0
Aquae destill.	500·0

Mit diesem Reagens wird die Reaktion in folgender Weise ausgeführt: 5 cm^3 Harn werden mit 1 cm^3 30%iger Essigsäure und 4 cm^3 des Reagens geschüttelt, daneben dieselbe Menge Harn mit 1 cm^3 Essigsäure und 4 cm^3 Wasser. In der zweiten Probe wird Mucin ausgefällt und der Vergleich mit der ersten zeigt eventuelle Anwesenheit von Eiweiß.

Die Probe muß genau nach Vorschrift ausgeführt werden, weil bei zu geringem Gehalt an Essigsäure Quecksilberverbindungen (Merkurphosphat, Merkurammonium) ausfallen können. Jodhaltige Harne geben bei dieser Probe einen Niederschlag von Quecksilberjodid. Derselbe löst sich in Alkohol (im Gegensatz zu Eiweiß).

Zur qualitativen Eiweißuntersuchung am Krankenbette sind mehrere Proben, welche mit leicht transportablen Reagenzien in festem Zustande und ohne Kochen ausgeführt

werden, vorgeschlagen. Diese Reagenztabletten und Reagenzpapiere sind zwar sehr bequem zu handhaben, geben aber sehr oft zu Täuschungen Veranlassung und können daher hier nicht empfohlen werden. Es ist zu bemerken, daß es bei der qualitativen Untersuchung des Harns auf Eiweiß immer ratsam ist, sich nicht bloß auf eine der beschriebenen Proben zu beschränken, sondern mindestens zwei von ihnen auszuführen. Wir verfahren gewöhnlich dabei folgendermaßen: Als vorläufige, orientierende Probe benutzen wir die *Heller*sche Schichtprobe. Ergibt dieselbe ein deutlich positives Resultat, d. h. entsteht sofort ein typischer Eiweißring, so enthält der Urin größere Eiweißmengen, und der Eiweißgehalt wird mit der Kochprobe oder der Sulfosalizylsäureprobe bestätigt. Entsteht der Ring erst nach einigen Minuten, so handelt es sich um Spuren von Eiweiß, welche durch die Sulfosalizylsäureprobe oder Kochprobe mit Kochsalz und Essigsäure kontrolliert werden. Ist bei der *Heller*schen Probe überhaupt kein Ring entstanden, so kann der Harn entweder vollkommen eiweißfrei sein oder nur ganz geringe Spuren Eiweiß enthalten. Als Kontrollproben müssen hier die empfindlichsten Reaktionen — die Probe nach *Jolles* oder Sulfosalizylsäureprobe — ausgeführt werden.

Wir empfehlen, die Sulfosalizylsäureprobe stets zu erhitzen, damit keine Verwechslungen mit Albumosen stattfinden.

3. Albumosen und Pepton.

Die Arbeiten von *Stadelmann* und dessen Schülern haben festgestellt, daß echte Peptone im Sinne *Kühnes* im Harne bisher mit Sicherheit noch nicht nachgewiesen sind.* In allen früher unter „Peptonurie“ zusammengefaßten Fällen handelt es sich höchstwahrscheinlich um Ausscheidung von Albumosen. Letztere finden sich im Harn meist bei solchen krankhaften Zuständen, bei welchen ein rascher Zerfall des normalen oder pathologischen Gewebes stattfindet, bei umfang-

---

* *Ito* und *Kostosky* sollen in der letzten Zeit Pepton Kühne im Urin nachgewiesen haben. Der Befund ist aber von anderen Autoren noch nicht bestätigt worden.

reichen, zellenreichen Exsudaten und Abszessen und bei fieberhaften Krankheiten verschiedener Art. Bei Beimischungen von Sperma sind im Harne auch Spuren von Albumosen nachweisbar, weil dieses Sekret Albumosen enthält.

Die im Harne vorkommenden Albumosen bestehen gewöhnlich aus einem Gemisch von Deutero- und Proto-Albumosen. Eine eigenartige Albumose — eine Art von Heteroalbumose — die sogenannte *Bence-Jones*sche Albumose, findet sich bei multiplem Myelom. Ganz geringe Mengen von Albumosen lassen sich im Harn direkt mit Sicherheit nicht nachweisen. Sie müssen erst durch Fällung aus größeren Harnmengen isoliert werden. Bei albumosenreichen (und eiweißfreien) Harnen zeigt schon der abnorme Verlauf der gewöhnlichen Eiweißproben die Anwesenheit von Albumosen an:

a) Bei der Kochprobe wird der beim Erhitzen klar gewesene Urin nach dem Erkalten trübe oder gibt einen flockigen Niederschlag.

b) Bei der Sulfosalizylsäureprobe verschwinden die Trübung respektive der Niederschlag beim Erhitzen und entstehen wieder beim Erkalten. Bei gleichzeitiger Anwesenheit von Eiweiß ist die Aufhellung beim Erhitzen keine vollkommene und muß in solchen Fällen der Harn zuerst enteiweißt werden (Seite 128). Zum sicheren Nachweise der Albumosen im Harn bedient man sich folgender Methode:

10 cm^3 Harn werden mit einigen Tropfen Salzsäure angesäuert, mit Phosphorwolframsäure ausgefällt und zentrifugiert, die über dem Niederschlag stehende Flüssigkeit abgegossen, der Niederschlag mit absolutem Alkohol gut gemischt und nochmals zentrifugiert. Das Auswaschen mit Alkohol wird so oft wiederholt, bis der Alkohol vollkommen farblos bleibt. Den Niederschlag löst man in einer geringen Menge Natronlauge. Die tiefblau gewordene Lösung wird leicht erwärmt, bis sie sich wieder entfärbt. Mit der abgekühlten Flüssigkeit wird die Biuretreaktion ausgeführt, d. h. man überschichtet die alkalische Flüssigkeit mit einer stark verdünnten Lösung von Kupfersulfat. Es entsteht eine rötlich-violette oder rosarote Färbung an der Berührungsstelle der stark verdünnten Kupfersulfatlösung und der zu untersuchenden Flüssigkeit.

4. Methoden der Enteiweißung des Harns.

1. Man versetzt den Harn mit Natriumazetat und soviel Eisenchlorid, bis die Flüssigkeit eine blutrote Färbung erhält. Ist die Flüssigkeit stark sauer, so wird verdünnte Natronlauge bis zur neutralen oder schwachsauren Reaktion zugesetzt; alsdann erhitzt man die Flüssigkeit bis zum Sieden, wobei das Eiweiß sich großflockig ausscheidet.

2. Der saure Urin (neutrale und alkalische Urine müssen mit Essigsäure ganz schwach angesäuert werden) wird bis zum beginnenden Sieden erhitzt. Scheidet sich dabei das Eiweiß nicht in großen Flocken ab, sondern entsteht nur eine Trübung, so fügt man vorsichtig einige Tropfen Essigsäure zu und erhitzt noch eine ganz kurze Zeit. Ist durch diese Manipulation wieder keine großflockige Eiweißausscheidung erreicht, so gibt man einige Kubikzentimeter gesättigter Kochsalzlösung zu und erhitzt wieder bis zum Sieden. Das Gelingen der Eiweißkoagulation ist in erster Linie von der Menge der zugesetzten Essigsäure abhängig und daher muß dieselbe mit großer Vorsicht zugegeben werden. Ein Überschuß wirkt ebenso schädigend auf die Koagulation wie ein ungenügender Zusatz. Das Filtrat muß klar sein und darf mit Sulfosalizylsäure keine Trübung geben (Ausnahme — albumosenhaltige Flüssigkeiten).

5. Mucin (Harnmucoid), Nukleoalbumin.

Die Mucinsubstanz des Harns (Harnmucoid) findet sich in demselben in aufgequollenem Zustande und scheidet sich beim Stehen allmählich aus, wobei sich die sogenannte „Nubecula“ bildet. Das Mucoid bildet fast den einzigen eiweißartigen Bestandteil der Nubecula und stammt hauptsächlich aus der Schleimhaut der ableitenden Harnwege. Durch Filtrieren des abgesetzten Urins wird derselbe von dem Mucoid befreit.

Die Substanz, welche man gewöhnlich als „mucinähnliche“ bezeichnet, ist nach ihrer chemischen Beschaffenheit kein Mucin. Nach *Mörner* entsteht diese Substanz bei Zusatz von Essigsäure aus Albumin, welches durch gewisse im Harn in geringer Menge vorkommende Säuren (Chondroitinschwefelsäure, Nukleinsäure und Taurocholsäure) niedergeschlagen

wird, wobei Verbindungen dieser Säuren mit Albumin sich bilden, d. h. Nukleoalbumine, so daß die mucinähnliche Substanz als ein Nukleoalbumin angesehen werden muß.

Eine besondere klinische Bedeutung ist für diese Substanz noch nicht festgestellt. Ihr Nachweis im Urin kommt insofern in Betracht, als diese Substanz das echte Harneiweiß vortäuschen kann. Man unterscheidet sie von Eiweiß durch folgende Reaktionen:

a) Man verdünnt den Harn 2—3mal mit Wasser und gibt Essigsäure im Überschuß zu (ohne zu erwärmen). Entsteht eine Trübung, so ist die mucinähnliche Substanz (Nukleoalbumin) vorhanden. Die Verdünnung des Harns vor dem Zusatz der Essigsäure verhütet eine Verwechslung mit Uraten und beschränkt die lösende Wirkung der Harnsalze auf diese Substanz.

b) Bei der *Heller*schen Schichtprobe entsteht eine ringförmige Trübung nicht an der Berührungsstelle der Flüssigkeiten, sondern 0·5—1 *cm* oberhalb derselben. Eine ähnliche Trübung kann in harnsäurereichen Harnen durch Ausscheidung der Harnsäure entstehen. Dieser Ring bleibt aber nach dem Verdünnen des Harns mit 2—3 Volumen Wasser aus, während die Trübung, welche von der mucinähnlichen Substanz herrührt, im verdünnten Harn bisweilen noch deutlicher hervortritt als im unverdünnten.

6. Fibrin (Faserstoff).

Das Fibrin wird entweder schon in geronnenem Zustande mit dem Harn entleert oder scheidet sich erst beim Stehen des Urins aus und bildet einen flockigen Niederschlag. Es ist unlöslich in Wasser, Salzlösungen sowie in der Kälte in verdünnten Säuren und Alkalien. Durch Alkalien wird das Fibrin in eine gallertige Masse verwandelt, welche bei längerem Erwärmen sich allmählich auflöst, ebenso löst es sich beim Kochen mit Säuren.

Zum Nachweis des Fibrins im Harn sammelt man die verdächtigen Gerinnsel auf einem Filter und wäscht sie so lange mit einer 1%igen Kochsalzlösung, bis das Waschwasser keine Eiweißreaktion mehr gibt. Alsdann wird der Rückstand mit

einer 5%igen Sodalösung oder 0·5%igen Salzsäure in der Wärme digeriert und aufgelöst. Die Lösung muß die charakteristischen Eiweißreaktionen geben. Am leichtesten wird Fibrin durch sein charakteristisches Aussehen bei der mikroskopischen Untersuchung erkannt.

Kohlehydrate des Harns.

Der normale Harn enthält gewöhnlich nur ganz geringe Mengen von Kohlehydraten, und zwar finden sich tierisches Gummi und ganz geringe Spuren Traubenzucker, welche mit den üblichen Reaktionen nicht nachweisbar sind.

Unter abnormen und pathologischen Verhältnissen können außer Traubenzucker noch folgende Zuckerarten gefunden werden: Milchzucker, Maltose, Inosit, Pentosen. Bei der klinischen Harnuntersuchung kommt aber hauptsächlich der Nachweis des Traubenzuckers in Betracht.

7. Traubenzucker, $C_6H_{12}O_6$ (Glykose, Dextrose, Harnzucker).

Der Nachweis des Traubenzuckers im Harn beruht hauptsächlich auf seinen folgenden Eigenschaften:

1. In alkalischer Lösung ist der Traubenzucker geneigt, Sauerstoff aufzunehmen und wirkt daher als kräftiges Reduktionsmittel. Metallische Oxyde werden dabei zu Oxydul oder reinem Metall reduziert.

2. Versetzt man eine Traubenzuckerlösung mit Hefe, so tritt alsbald alkoholische Gärung ein, durch welche der Traubenzucker hauptsächlich in Alkohol und Kohlensäure zerlegt wird. $C_6H_{12}O_6 = 2\,C_2H_6O + 2\,CO_2$.

3. Mit Phenylhydrazin bei Gegenwart von Natriumazetat bildet Traubenzucker eine kristallinische Verbindung: Phenylglykosazon: $C_6H_{12}O_6 + 2NH_2—NH.\,C_6H_5 = C_6H_{10}O_4 : (N—NHC_6H_5)_2 + 2\,H_2O + H_2$.

4. Seine wässerige Lösung dreht die Ebene des polarisierten Lichtes nach rechts, und zwar beträgt die spezifische Drehung + 52·5°. Frisch bereitete Lösungen zeigen Birotation, d. h. doppelte Drehung, welche beim Erwärmen oder längeren Stehen aufgehoben wird.

Zuckerreaktionen, welche auf den reduzierenden Eigenschaften des Traubenzuckers beruhen.

a) Die *Nylander*sche Probe. Eine farblose, alkalische Lösung von Wismutoxyd färbt sich beim Erwärmen mit Traubenzucker schwarz, weil das Wismutoxyd in Wismutoxydul oder metallisches Wismut umgewandelt wird. Das *Nylander*sche Reagens hat folgende Zusammensetzung:

Bismuthi subnitrici	2·0
Sel. Seignetti	4·0
Natrii caustici	10·0
Aquae destill.	100·0

Ausführung der Probe. 5—10 cm^3 Harn werden mit 15—20 Tropfen (ein Überschuß schadet nicht) des Reagens versetzt und 2 Minuten (nicht weniger) gekocht. Es bildet sich in jedem Urin zunächst ein weißlicher, flockiger Niederschlag aus Phosphaten, welcher bei zuckerfreien Harnen unverändert bleibt. In zuckerhaltigen Urinen färbt sich zuerst der Niederschlag und dann die ganze Flüssigkeit gelbbraun und zuletzt schwarz. Bei geringen Zuckermengen (unter 0·1%) ist eine deutliche schwarze Färbung des Niederschlages während des Kochens nicht wahrnehmbar; die Färbung tritt erst dann hervor, nachdem der Niederschlag sich zu Boden gesenkt hat. In solchen Fällen ist die Flüssigkeit nur dunkelgelb oder dunkelbraun gefärbt. Das Kochen der Probe muß mit gewisser Vorsicht ausgeführt werden, damit das Sieden ruhig, ohne starkes Aufstoßen geschieht. Man nimmt daher gleich nach dem ersten Aufwallen das Reagenzglas aus dem oberen heißen Teile der Flamme und hält es während des weiteren Kochens nur nahe dem kälteren unteren Teile. Die *Nylander*sche Probe ist sehr empfindlich, darum kann man bei negativem Ausfall dieser Probe mit Sicherheit behaupten, daß der betreffende Harn vollkommen zuckerfrei ist.

Das positive Resultat dagegen bedeutet nicht immer das Vorhandensein von Traubenzucker, weil andere im Harn vorkommende Substanzen denselben vortäuschen können. Die wichtigsten von diesen Substanzen sind folgende:

α) Eiweiß. Bei Eiweißgehalt bis zu 2·0‰ entsteht eine rotbraune Färbung, bei größeren Eiweißmengen eine schwarzbraune,

welche zu einer Verwechslung mit durch Zucker reduziertem Wismut Veranlassung geben kann. Die schwarze Färbung wird in eiweißhaltigem Harn durch Zersetzung des Eiweißes und Bildung von Schwefelwismut bedingt. Man tut darum gut, wenn man von so stark eiweißhaltigem Harn das Eiweiß nach einer vorher angegebenen Methode vor der Ausführung der Probe ausscheidet. Es gibt auch Fälle, wo trotz Zuckergegenwart gar keine Reduktion eintritt, weil das ganze Reagens an das Eiweiß gebunden wird. Das passiert aber nicht, wenn man mit dem Reagens nicht zu sparsam ist und lieber dasselbe im Überschuß zusetzt.

β) Chrysophansäure, welche nach Gebrauch von Rheum- oder Sennapräparaten durch den Harn ausgeschieden wird, verursacht ebenfalls eine Reduktion bei der *Nylander*schen Probe. Ihre Gegenwart verrät sich durch eine rötliche Färbung des Harns schon bei Zusatz des Reagens. Diese Färbung entsteht ebenfalls bei Zusatz von Natronlauge und verschwindet vollkommen bei Hinzufügung von Essigsäure (Unterschied von Hämoglobin).

γ) Salol, Antipyrin, Menthol, Terpentinöl scheiden sich nach innerem Gebrauch im Harn als Glykuronsäureverbindungen aus und verursachen ebenfalls eine schwache Reduktion bei der *Nylander*schen Probe.

Bei stark ausgesprochener Zersetzung des Harns durch Gärung, wobei sehr viel Ammoniumkarbonat vorhanden ist, kann die Reaktion bei Gegenwart von Zucker negativ ausfallen, weil die Natronlauge des Reagens sich mit Ammoniumkarbonat zu Natriumkarbonat und Ammoniak umsetzt und letzteres beim Kochen entweicht, so daß die zur Reduktion notwendige starke Alkaleszenz fehlt.

b) Die *Trommer*sche Probe. Die Probe beruht auf folgenden Tatsachen:

Setzt man zu einer Natronlaugelösung Kupfersulfat zu, so bildet sich ein in Natronlauge unlöslicher Niederschlag von Kupferhydroxyd $2\,NaOH + CuSO_4 = Na_2SO_4 + Cu(OH_2)$. Dieser Niederschlag ist aber in weinsauren Salzen, Ammoniak, Eiweiß, Harnsäure, Kreatinin und Traubenzucker löslich. Der normale Harn enthält einige von diesen Kupferhydroxyd lösenden Substanzen in geringer Menge.

Erwärmt man nun eine alkalische blaue Kupferhydroxydlösung, so bleibt dieselbe unverändert, wenn die Flüssigkeit keine reduzierenden Substanzen enthält.

Sind aber solche Substanzen vorhanden, so bildet sich aus dem Kupferhydroxyd Kupferoxydul, die Flüssigkeit verliert dabei ihre blaue Farbe, sie wird gelb oder farblos und es entsteht ein

gelber oder roter Niederschlag. Der gelbe Niederschlag besteht aus Kupferhydroxydul, der rote aus reinem wasserfreien Kupferoxydul.

Ausführung. Man versetzt in einem Reagenzglase 5 bis 8 cm^3 Harn mit etwa $^1/_4$ seines Volumens Kali- oder Natronlauge (10%) und fügt tropfenweise unter kräftigem Schütteln eine 10%ige Lösung von Kupfersulfat so lange hinzu, bis eine ganz geringe Menge des sich dabei bildenden Kupferhydroxyds ungelöst bleibt. Jetzt erhitzt man die Mischung am besten an der Oberfläche der Flüssigkeit bis zum beginnenden Sieden. Ist Zucker vorhanden, so bildet sich zuerst an der erwärmten Stelle eine gelbe Trübung, welche ohne weiteres Erwärmen sich bald über die ganze Flüssigkeit verbreitet, und es setzt sich ein gelber oder roter feinkörniger Niederschlag ab.

In dieser Weise verläuft die Reaktion aber nur im ausgesprochen diabetischen Harn.

Bei geringem Zuckergehalt (unter 0·5%) färbt sich zwar die Flüssigkeit gelb, aber es entsteht oft keine Ausscheidung des Kupferoxyduls. Andrerseits kann eine Gelbfärbung der Flüssigkeit und sogar (nach dem Erkalten) eine nachträgliche Ausscheidung des Kupferoxydulniederschlages in vollkommen zuckerfreien konzentrierten Harnen entstehen. Dieses atypische Verhalten des Urins bei der *Trommer*schen Probe ist dadurch bedingt, daß

a) der Urin Substanzen enthält, welche Kupferoxydul in Lösung erhalten (Harnsäure, Kreatinin, Ammoniaksalze),

b) der normale Urin Substanzen enthält, welche Kupferoxyd reduzieren (Harnsäure, Glykuronsäure, Kohlehydrate u. a.).

Das Lösungsvermögen des normalen Harns für Kupferoxydul ist so groß, daß, wenn man einen normalen Harn mit Traubenzucker bis zum Zuckergehalt von 0·5% versetzt und dann die *Trommer*sche Probe ausführt, oft keine Ausscheidung von Kupferoxydul eintritt.

Im diabetischen Harn kann die Kupferoxydul-Ausscheidung bei geringerem Zuckergehalt eintreten, weil die kupferoxydullösenden Substanzen in demselben durch die in der Regel bestehende Polyurie relativ vermindert sind.

Jedenfalls läßt die *Trommer*sche Probe den Untersuchenden oft über das Vorhandensein von Zucker im Urin in Un-

gewißheit und daher muß man diese Probe als eine unsichere, ungenaue ansehen. Sie hat für den Praktiker insofern einen Wert, als sie bei ausgesprochenen Fällen die Menge des Zuckers nach dem Volumen des ausgeschiedenen Kupferoxyduls zu beurteilen gestattet. Zum genaueren qualitativen Nachweis von Zucker soll man die *Trommer*sche Probe nur in der folgenden verbesserten Form in Anwendung bringen.

c) Probe nach *Fehling*. Notwendige Reagenzien:

1. 7%ige Lösung von Kupfersulfat (*Fehling* Nr. 1).
2. Natriumhydrat . . . . . 10·0
   Weinsaures Kalinatron (Seignettesalz) 35·0
   Aqu. dest. . . . . 100·0
   (*Fehling* Nr. 2).

Ausführung. Man bringt je 1 cm^3 beider Lösungen in ein Reagenzglas, schüttelt die Mischung um, verdünnt mit einer dreifachen Menge Wassers und erhitzt bis zum Sieden. Die heiße Flüssigkeit versetzt man alsdann mit 3—5 Tropfen des zu untersuchenden Harns und erhitzt wiederum bis zum Sieden. Ist kein Zucker vorhanden, so behält die Flüssigkeit ihre blaue Farbe. Bei reichlichem Zuckergehalt entsteht schon sofort nach der Zugabe des Harns eine gelbe oder gelbrote Färbung der Flüssigkeit und Ausscheidung eines reichlichen feinkörnigen Niederschlages von Kupferoxydul. Bei geringerem Zuckergehalt treten die Veränderung der Farbe und die Ausscheidung des Kupferoxyduls erst bei der nochmaligen Erwärmung ein.

Die kupferoxydullösenden und reduzierenden Eigenschaften des normalen Harns werden bei dieser Probe dadurch beseitigt, daß die zur Ausführung der Reaktion notwendige Harnmenge sehr gering ist und deshalb die genannten Eigenschaften des Harns ad minimum reduziert sind. Durch die Anwesenheit des weinsauren Kalinatrons im Reagens wird die Ausscheidung von Kupferhydroxyd, welches beim Kochen schwarzes Kupferoxyd bildet und bei der *Trommer*schen Probe oft die Reaktion undeutlich macht, vollkommen vermieden, weil das Seignettesalz das Kupferoxydhydrat in Lösung erhält.

Gärungsprobe. Man verreibt in einem Reagenzglas ein erbsengroßes Stückchen frischer Preßhefe, die vollkommen zuckerfrei sein muß, mit etwas Harn (1—2 cm^3) und fügt

diesem Hefebrei etwa 20—25 cm^3 Harn zu. Reagiert der Harn alkalisch, so wird er bis zur sauren Reaktion mit Weinsäure versetzt. Mit diesem hefehaltigen, sauren Harn füllt man das nebenstehend abgebildete (Fig. 32) *Einhorn*sche Gärungsröhrchen derart, daß das Röhrchen *a* mit der Flüssigkeit vollkommen gefüllt ist und keine Spur Luft enthält. Der Harn

Fig. 32.

wird bis zur Hälfte der kugelförmigen Erweiterung *c* gefüllt und der Apparat an einen mäßig erwärmten Ort (25—30° R) gestellt. Der horizontale Teil des Apparates kann bei *b* sicherheitshalber durch einige Tropfen Quecksilber abgeschlossen werden, was übrigens bei qualitativen Proben nicht nötig ist. Bei Anwesenheit von Zucker wird sich schon im Verlaufe von einigen Stunden in dem oberen Teile des Röhrchens *a* Kohlensäure ansammeln, da der Traubenzucker bei der Gärung

in Alkohol und Kohlensäure zerlegt wird. Ist Zucker nicht vorhanden, so wird keine Gasbildung stattfinden. Der Versuch ist als beendet erst nach 24 Stunden anzusehen. Da die käufliche Hefe nicht immer zuckerfrei und gärungsfähig ist, so müssen gleichzeitig zwei Kontrollproben angestellt werden: ein Gärungsröhrchen wird in der beschriebenen Weise mit durch Weinsäure angesäuertem Wasser und Hefe, das andere mit einer angesäuerten Traubenzuckerlösung (0·5%) und Hefe gefüllt. Die Brauchbarkeit der Hefe ist erwiesen, wenn im ersten Kontrollgärungsröhrchen sich kein Gas bildet, im zweiten aber Kohlensäure sich in reichlicher Menge ansammelt. Will man sich überzeugen, daß das ausgeschiedene Gas wirklich aus Kohlensäure besteht, so läßt man mittelst einer gekrümmten Pipette etwas Natronlauge in das Röhrchen *a* eintreten. Verschwindet dann die Gasblase, so bestand sie aus Kohlensäure.

Die Gärungsprobe ist die einzige absolut sichere und genaue Methode zum Nachweis von Zucker im Harn, da kein andrer normaler oder pathologischer Bestandteil des Harns eine ähnliche Reaktion gibt. Sie ist auch gleichzeitig genügend empfindlich: ein Zuckergehalt von 0·05% wird noch deutlich mittelst dieser Probe nachgewiesen.

Die Phenylhydrazinprobe (nach *Kowarsky*). 5 Tropfen reinen Phenylhydrazins (Phenylhydrazinum purum) werden in einem gewöhnlichen Reagenzglase mit 10 Tropfen Essigsäure versetzt, die Mischung wird leicht umgeschüttelt. Darauf fügt man zirka 1 cm^3 gesättigter Kochsalzlösung zu, wobei das Gemenge zu einem Brei erstarrt. Zu diesem Brei fügt man zirka 5 cm^3 Harn und erhitzt vorsichtig über der Flamme. Die Flüssigkeit muß wenigstens 2 Minuten im Sieden erhalten werden. Bei langsamem Abkühlen scheidet sich ein gelber Niederschlag ab, der aus den typischen Kristallen des Phenylglykosazons besteht. Die mehr oder minder schnelle Abscheidung des Niederschlags hängt von dem Zuckergehalte des Harns ab. Bei einem Zuckergehalte von mehr als 0·2% bildet sich der Niederschlag in einigen Minuten. Bei einem geringeren Gehalt aber muß man 5 Minuten bis eine halbe Stunde warten. Diese Probe ist sehr empfindlich und läßt einen Zuckergehalt von 0·03% noch erkennen.

Über den praktischen Wert der Phenylhydrazinprobe sind die Ansichten bis jetzt geteilt; einerseits wird behauptet, daß auch normale Harne Bestandteile enthalten, welche mit Phenylhydrazin Osazone bilden und ähnliche Kristalle liefern; andrerseits wird diese Probe als zuverlässige und in zweifelhaften Fällen einen sicheren Anhaltspunkt gebende angesehen.

In der Tat sind im normalen Harn oft Substanzen vorhanden (Glykuronsäureverbindungen), welche bei dieser Probe ähnliche Kristalle bilden. Dieselben finden sich aber in sehr geringer Menge und bei gewisser Übung kann man sie leicht von den typischen Glykosazonkristallen unterscheiden, weil sie plumper, dicker und nicht so typisch gelagert sind als die echten Kristalle. Außer den Glykuronsäureverbindungen bilden auch die Pentosen Osazone. Bis jetzt sind aber in der gesamten Literatur nur wenige Fälle von echter Pentosurie beschrieben, so daß diese Kohlehydrate bei der Beurteilung der Phenylhydrazinprobe nicht schwer ins Gewicht fallen. Auf Grund unserer eigenen Erfahrung, welche sich auf mehrere Tausende von Harnuntersuchungen erstreckt (wobei das Resultat der Phenylhydrazinprobe stets mit der Gärungsprobe kontrolliert wurde), halten wir diese Probe für eine sehr empfindliche und zuverlässige und möchten ihre Ausführung besonders in zweifelhaften Fällen stets empfehlen.

Über den Nachweis des Zuckers im Polarisationsapparate siehe den Abschnitt über quantitative Untersuchungen des Harns.

8. Milchzucker, $C_{12}H_{22}O_{11}$ (Laktose).

Der Milchzucker findet sich in geringen Mengen (Maximum 1%) im Harn der Frauen bei Milchstauung. Er besitzt wie Traubenzucker die Eigenschaft, Metalloxyde in alkalischer Lösung zu reduzieren, dreht auch die Polarisationsebene nach rechts. Mit Alkoholhefe unterliegt er aber der alkoholischen Gärung nicht. Beim Kochen mit verdünnten Säuren geht er in Traubenzucker und gärungsfähige Galaktose über. Letztere gibt auch eine kristallinische Verbindung mit Phenylhydrazin (Galaktosazon). Nach *Rubner* wird der Milchzucker im Harn mittelst folgender Probe nachgewiesen:

Man kocht 10 cm^3 mit viel Bleizucker 3 bis 4 Minuten lang; die Flüssigkeit wird bei Anwesenheit von Milchzucker gelb bis bräunlich; fügt man der heißen Flüssigkeit darauf so lange Ammoniak zu, als sich der Niederschlag noch löst, so färbt sich die Flüssigkeit intensiv ziegelrot und setzt endlich einen schönen kirschroten bis kupferfarbenen Niederschlag ab, während sich die überstehende Flüssigkeit entfärbt. Die Reaktion ist nicht empfindlich, sie fällt nur bei Milchzuckergehalt von 0·3—0·5% und darüber deutlich aus. Wird auf den Nachweis von Milchzucker im Harn großer Wert gelegt, so muß er aus größeren Mengen Harn in reinem Zustande isoliert und geprüft werden.

9. Fruchtzucker, $C_6H_{12}O_6$ (Levulose).

Die Levulose kommt selten im Harn vor und größtenteils als Begleiterin des Traubenzuckers. Sie unterscheidet sich vom Traubenzucker dadurch, daß sie die Polarisationsebene nach links dreht. Ihr Verhalten gegen Metalloxyde, Hefe und Phenylhydrazin ist genau dasselbe wie das des Traubenzuckers. Zum Nachweis des Fruchtzuckers im Harn muß der Zuckergehalt desselben mit mindestens zwei Methoden bestimmt werden durch Polarisation und Gärung oder durch Polarisation und Titration nach *Fehling*. Der Nachweis von Fruchtzucker ist dann erwiesen, wenn der Harn bedeutend schwächer rechts dreht, als seinem durch eine andere genaue quantitative Methode ermittelten Zuckergehalt entspricht; dabei muß aber auch nachgewiesen werden, daß andere, linksdrehende Substanzen (Eiweiß, β-Oxybuttersäure etc.) im Harn nicht vorhanden sind.

Seliwanoff hat folgende Farbenreaktion zum Nachweis von Fruchtzucker vorgeschlagen:

Erwärmt man eine Levuloselösung mit Resorcin und Salzsäure, so erhält man einen Niederschlag, welcher sich in Alkohol mit einer roten Farbe auflöst. Diese Reaktion ist nicht ganz sicher.* Auch hier gelangt man durch die Reindarstellung zur vollen Gewißheit über die Art des vorliegenden Zuckers.

* Nach *Loew* gibt Pyrogallol eine ähnliche Reaktion.

10. Pentosen, $C_5H_{10}O_5$ (Pentaglykosen).

Pentosen unterscheiden sich von anderen Zuckerarten dadurch, daß sie gärungsunfähig sind. Sie reduzieren die *Fehling*sche Lösung erst nach längerem Erhitzen und bei der *Nylander*schen Reaktion tritt nur eine sehr schwach ausgesprochene Reduktion ein. Der Nachweis der Pentosen im Harn gelingt am besten durch die Orcinprobe, welche in nachstehender Weise ausgeführt werden muß:

Man löst etwas Orcin in 5—8 cm^3 rauchender Salzsäure unter Erwärmen, so daß ein kleiner Überschuß ungelöst bleibt. Man versetzt alsdann die heiße Flüssigkeit mit 1—2 cm^3 Harn und erhitzt wieder bis zum Sieden. Sind Pentosen vorhanden, so färbt sich die Flüssigkeit grün. Man extrahiert den Farbstoff mit einer geringen Menge Amylalkohol und untersucht die gefärbte Lösung spektroskopisch. Man findet einen Absorptionsstreifen zwischen *C* und *D* im roten Teile des Spektrums. Die Orcinprobe beruht auf der Bildung von Furfurol, das beim Kochen mit Orcin und Salzsäure einen grünen Farbstoff liefert.

11. Glykuronsäure ($CHO[CHOH]_4COOH$).

Nach ihrer chemischen Beschaffenheit steht die Glykuronsäure den Kohlehydraten sehr nahe. Sie wird als das erste Oxydationsprodukt des Traubenzuckers betrachtet. Freie Glykuronsäure kommt im Harn nicht vor; sie scheidet sich gewöhnlich in der Form gepaarter Verbindungen mit Phenol, Skatoxyl, Indoxyl, Thymol usw. sowohl in normalen wie in pathologischen Harnen aus. Bei der klinischen Harnuntersuchung kommt sie insofern in Betracht, als sie einige dem Traubenzucker ähnliche Reaktionen gibt, was oft zur Verwechslung mit demselben führen kann. Die freie Glykuronsäure dreht die Ebene des polarisierten Lichtes nach rechts, die gepaarte Glykuronsäuren nach links. Die Anwesenheit der gepaarten Glykuronsäuren im normalen Harn verursacht höchstwahrscheinlich seine geringe Linksdrehung. Das kann dadurch erwiesen werden, daß nach Kochen mit verdünnter Säure (Schwefelsäure) der Harn Rechtsdrehung zeigt, weil durch

Kochen mit Säuren die Glykuronsäure frei wird. Bei der *Fehling*schen und *Nylander*schen Reaktion erhält man eine schwache Reduktion. Mit Bleiessig werden die Glykuronsäureverbindungen ausgefällt (Unterschied von Traubenzucker).

Für den Nachweis der gepaarten Glykuronsäuren im Harn bilden die Reduktionsfähigkeit und Linksdrehung des Harns nur Anhaltspunkte, aber keine sicheren Beweise. Zum sicheren Nachweis der gepaarten Glykuronsäuren muß man nach *Salkowski* und *Paul Mayer* in folgender Weise verfahren: Zuerst wird die Phloroglucinprobe ausgeführt:

Man löst etwas Phloroglucin unter Erwärmung in 5—6 cm^3 rauchender Salzsäure, so daß ein kleiner Überschuß ungelöst bleibt, teilt die Flüssigkeit in zwei gleiche Portionen und setzt nach dem Erkalten der einen Hälfte $^1/_2$ cm^3 des zu prüfenden Harns, der anderen ebensoviel eines ungefähr gleich konzentrierten, normalen Harns zu. Taucht man beide Proben in ein Becherglas mit siedendem Wasser, so zeigt der glykuronsäurehaltige Harn bald eine intensiv rote Färbung, welche sich allmählich von oben nach unten verbreitet. Der normale Harn verändert dabei seine Farbe nicht merklich oder nur unbedeutend. Da auch Pentosen diese Probe geben, so muß nachgewiesen werden, daß der native Harn sich bei der Orcinreaktion negativ verhält; diese letztere Reaktion muß aber im Harn, welcher gepaarte Glykuronsäuren enthält, nach Kochen mit Säure deutlich auftreten.

50 cm^3 Harn werden mit soviel konzentrierter Schwefelsäure, daß die Flüssigkeit einer 1%igen Schwefelsäurelösung entspricht, in einer Porzellanschale auf freiem Feuer erhitzt. Ein Optimum in der Dauer der Erhitzung läßt sich nicht genau angeben. Meistens genügt es, den Harn 1—3 Minuten im Sieden zu erhalten. Man stellt dann direkt mit der Lösung, ohne dieselbe zu filtrieren, die Orcinprobe an. Tritt dieselbe noch nicht auf, so setzt man das Erhitzen noch 1—2 Minuten fort.

12. Aceton, Acetessigsäure, β-Oxybuttersäure.

Aceton, $CH_3 . CO . CH_3$.

Der normale Harn enthält nur ganz geringe, mit den üblichen Reaktionen nicht nachweisbare Spuren Aceton (höchstens 0·01 *g* in der Tagesmenge); unter abnormen und pathologischen Verhältnissen (Diabetes, Fieber, strenge Fleischdiät,

Hunger, Verdauungsstörungen) kann der Gehalt des Harns an Aceton bis zu 0·5 und sogar bis zu 1·0 *g* in der 24stündigen Menge steigen.

Nachweis. 1. Probe nach *Legal:* Man versetzt 8 bis 10 *cm*³ Harn mit 3—5 Tropfen einer frisch bereiteten, gesättigten Nitroprussidnatriumlösung und macht darauf mit einigen Tropfen Natronlauge die Flüssigkeit alkalisch. Beim Zusatz von Natronlauge entsteht eine rubinrote Färbung, welche fast in jedem Harn hervortritt und durch einen normalen Bestandteil des Harns, das Kreatinin, bedingt ist. Übersättigt man nun die rotgefärbte Flüssigkeit mit konzentrierter Essigsäure, so wird bei Anwesenheit von Aceton die rote Farbe noch intensiver, sie geht in carmoisinrot über, während im acetonfreien Harn die Rotfärbung vollkommen verschwindet. Die Reaktion ist nicht sehr empfindlich: nach *v. Jaksch* können nur Mengen über 0·8 *mg* nachgewiesen werden. Um kleinere Mengen nachzuweisen, muß der angesäuerte Harn (100 *cm*³) destilliert werden und die erste Portion des Destillats mittelst der empfindlicheren

2. Jodoformprobe nach *Lieben* untersucht werden: Man versetzt 5—10 *cm*³ des Destillats mit einigen Tropfen einer *Lugol*schen Jodjodkaliumlösung und etwas Natronlauge. Bei Gegenwart von Aceton bildet sich Jodoform, welches an Geruch und Kristallform (sechsseitige oder sternförmige Tafeln) leicht erkennbar ist. Die Reaktion ist viel empfindlicher als die *Legal*sche; ihr Nachteil besteht darin, daß auch Alkohol und Aldehyd dieselbe Reaktion geben und gerade in den Fällen, in welchen der Nachweis von Aceton von großer Wichtigkeit ist, nämlich in diabetischen Harnen, auch Alkohol (durch Vergärung des Zuckers) vorkommen kann.

Acetessigsäure (Diacetsäure), $CH_3\,COCH_2\,COOH$.

Acetessigsäure findet sich im Harn fast stets nur unter pathologischen Verhältnissen und ist sehr häufig von Aceton und β-Oxybuttersäure begleitet. Sie bildet sich aus der β-Oxybuttersäure und zerfällt sehr leicht in Aceton und Kohlensäure.

Man muß daher stets den Harn in möglichst frischem Zustande untersuchen.

Nachweis. Probe nach *Gerhardt:* Man versetzt 5—10 cm^3 Harn mit Eisenchloridlösung so lange, als sich noch ein Sediment bildet; bei Anwesenheit von Acetessigsäure entsteht eine bordeauxrote Färbung. Tritt die Rotfärbung der Flüssigkeit nicht deutlich hervor, so empfiehlt es sich, dieselbe vom Niederschlag des Eisenphosphats durch Filtrieren zu trennen. Eine ganz ähnliche Reaktion gibt der Harn nach innerem Gebrauch von Salizylsäure, Antipyrin, Thallin, Phenacetin und einiger anderen Arzneisubstanzen. Man muß daher zur Sicherstellung des Vorhandenseins von Acetessigsäure beim positiven Ausfall der Reaktion noch eine Kontrollprobe anstellen. Man kocht 5—10 cm^3 Urin 3—5 Minuten lang, nach dem Erkalten wird die Probe mit Eisenchlorid in angegebener Weise versetzt. War Acetessigsäure vorhanden, so darf die Rotfärbung nicht mehr eintreten, da die Acetessigsäure durch Kochen zerstört wird. War das positive Resultat der Probe durch Arzneimittel bedingt, so wird die Rotfärbung bei Zusatz von Eisenchlorid auch nach dem Kochen entstehen.

β-Oxybuttersäure, $CH_3CH(OH)CH_2COOH$.

Diese Säure findet sich im Harn in schweren Fällen von Diabetes und wird stets von Aceton und Acetessigsäure, welche als ihre Zersetzungsprodukte betrachtet werden, begleitet. Sie dreht die Ebene des polarisierten Lichtes nach links und kann infolgedessen die quantitative Bestimmung des Traubenzuckers durch Polarisation beeinträchtigen, ja sogar unmöglich machen.

Der Nachweis von β-Oxybuttersäure im Harn geschieht nach *Külz* in folgender Weise:

Man vergärt den Harn mit Hefe und fällt mit essigsaurem Blei und Ammoniak die meisten linksdrehenden Substanzen — außer β-Oxybuttersäure — aus. Das Filtrat wird im Polarisationsapparate untersucht. Linksdrehung läßt die Anwesenheit der Säure vermuten.

13. Die Farbstoffe und Chromogene des Harns.

A. Indikan (Syn. Indoxylschwefelsäure), $C_8H_6NOSO_2OH$.

Der normale menschliche Harn enthält nur geringe Mengen Indikan (durchschnittlich 0·06 *g* in der Tagesmenge). Bei pathologischen Zuständen kann eine 10—15fache Menge vorhanden sein. Die Muttersubstanz des Indikans, Indol, bildet sich im Darm als Produkt der Eiweißfäulnis. Nach der Resorption wird Indol zu Indoxyl oxydiert, dann an die Schwefelsäure des Harns gebunden und auf diese Weise als Indoxylschwefelsäure ausgeschieden. Aus dem Harn kann das Indikan durch Mineralsäure wieder in seine Bestandteile zerlegt und Indoxyl dann durch Oxydation in Indigo übergeführt werden. Unter pathologischen Verhältnissen kann eine spontane Ausscheidung von Indigo im Harn stattfinden, wobei dasselbe sich in Lösung oder im Sediment findet.

Nachweis. Nach *Jaffé:* Ein Drittel Reagenzglas Harn versetzt man mit einem gleichen Volumen konzentrierter Salzsäure, 1—2 cm^3 Chloroform und einem Tropfen halbgesättigter Chlorkalklösung. Das zugekorkte Reagenzglas wird darauf wiederholt umgekehrt, wobei das gebildete Indigoblau durch das Chloroform extrahiert und letzteres deutlich blau gefärbt wird. Ein stärkeres Schütteln mit Chloroform darf nicht stattfinden, weil dasselbe mit dem Harn eine schwer trennbare Emulsion bildet.

Die Reaktion beruht auf der Spaltung des Indikans durch Salzsäure und Oxydation des frei gewordenen Indoxyls durch Chlorkalk zu Indigoblau. Mit dem Zusatz von Chlorkalk muß man sehr vorsichtig sein; man gibt anfangs nicht mehr als einen Tropfen zu, denn bei zu starker Oxydation kann das Indigoblau sofort zu gelbem Isatin weiter oxydirt und auf diese Weise vollkommen übersehen werden. Gibt man die Chlorkalklösung tropfenweise weiter zu, so wird man bemerken, daß in indikanarmen Harnen die Blaufärbung des Chloroforms nach einigen Tropfen schon verschwindet, während in indikanreichen bei weiterem Zusatz die Blaufärbung immer intensiver wird und es muß eine verhältnismäßig große Menge der Lösung zugegeben werden, bis das Indigoblau vollkommen in Isatin übergegangen ist. Dieses Verhalten kann zur quan-

titativen Schätzung der vorhandenen Indikanmenge benutzt werden.

Da Chlorkalk zu stark oxydierend wirkt und außerdem sich schlecht konservieren läßt, kann derselbe zweckmäßig durch eine 2%ige Kaliumpermanganatlösung ersetzt werden, von welcher man zuerst 2—3 Tropfen verwendet und bei weiterem Zusatz in derselben Weise wie mit Chlorkalk vorgeht.

Man erhält nicht selten bei der Indikanprobe anstatt einer Blaufärbung eine rosarote Färbung des Chloroforms. Das geschieht nach innerem Gebrauch von Jodpräparaten. Das Jod wird dabei aus seinen Verbindungen durch Salzsäure und die Oxydationsmittel frei gemacht und bedingt eine rote Färbung des Chloroforms. Um dieselbe zu beseitigen, gibt man ein Kristall Natriumthiosulfat zu und schüttelt die Flüssigkeit. Das Jod bildet dabei farblose jodsaure Salze und das Chloroform entfärbt sich. Bei gleichzeitiger Gegenwart von Jod und Indikan entsteht eine violette Färbung des Chloroforms, welche nach Behandlung mit Natriumthiosulfat einer blauen Platz macht.

Bei Gegenwart von Chrysophansäure entsteht bei der Indikanprobe eine grünlichgelbe Färbung des Chloroforms.

Eine gelbe erhält man nach innerem Gebrauch von Brompräparaten.

B. Urobilin.

Der normale Harn enthält ganz geringe Mengen Urobilin in Form eines Chromogens — Urobilinogen —, das durch Einwirkung des Lichts und bei Gegenwart von Säuren sehr leicht in den Farbstoff übergeht. In reinem Zustande ist Urobilin eine amorphe, rotbraune, in Wasser schwer lösliche Substanz. In Alkohol, Chloroform und Alkalien ist Urobilin leicht löslich, mit alkalischen Erden und Schwermetallen bildet es unlösliche Salze.

Nachweis. Man versetzt 10—15 cm^3 Harn mit einem gleichen Volumen einer alkoholischen 10%igen Zinkacetatlösung und filtriert. Das Filtrat zeigt gegen einen dunklen Hintergrund gehalten eine deutliche grüne Fluoreszenz. Diese Probe ist sehr empfindlich.

C. Gallenfarbstoff.

Der normale Harn enthält keine Gallenfarbstoffe. Letztere gelangen unter pathologischen Verhältnissen in den Blutstrom und aus demselben in den Urin. Im frischen ikterischen Urin ist von den verschiedenen Gallenfarbstoffen mit Sicherheit nur das Bilirubin nachgewiesen worden. Die übrigen — Biliverdin, Biliprasin, Bilifuscin — bilden sich erst bei längerem Stehen des Harns und müssen daher als Abkömmlinge des Bilirubins betrachtet werden.

Ikterischer Harn zeigt eine safrangelbe, rötlichbraune bis dunkelbraune (bierähnliche) Farbe. Beim Schütteln bildet sich ein charakteristisch gelbgefärbter Schaum.

Nachweis. *a)* Die *Gmelin*sche Probe. Man versetzt in einem Reagensglas 5—6 cm^3 gewöhnlicher konzentrierter Salpetersäure mit einigen Tropfen gelber, rauchender Salpetersäure und überschichtet das Gemisch vorsichtig mit einer gleichen Menge des zu untersuchenden Harns. Bei Gegenwart von Gallenfarbstoffen entsteht an der Berührungsstelle der Flüssigkeiten ein smaragdgrüner Ring, unter dem sich allmählich ein blauer, violetter oder gelber Ring bildet. Die Probe ist nur dann als positiv anzunehmen, wenn der grüne Ring deutlich ausgesprochen ist, weil blaue und violette Farbenringe durch Oxydation anderer im Harne vorkommender Substanzen (Indikan, Indigrot) entstehen können. Diese Probe ist nicht empfindlich. Sie läßt nur eine Beimischung von 5% Galle erkennen.

b) Modifikation nach *Rosenbach*. Man filtriert eine größere Menge Harn durch ein Filter und betupft die innere Seite des Filters mit einem Tropfen Salpetersäure, welche salpetrige Säure enthält (Vorbereitung wie bei der Probe *a*). Man erhält dieselben Farben wie bei Probe *a*.

Die Probe ist etwas empfindlicher wie die *Gmelin*sche Probe und fällt bei geringeren Mengen des Gallenfarbstoffes schärfer aus. Man muß aber bei dieser Probe beachten, daß auch nach Antipyringenuß ein grüner Ring entstehen kann. Außerdem erhält man nicht selten eine blaue Farbe, welche durch Jodpräparate bedingt ist, weil durch die Salpeter- und salpetrige Säure das Jod freigemacht wird und mit der im Filtrierpapier vorhandenen Stärke eine mehr oder

weniger intensive Blaufärbung verursacht. Diese blaue Farbe kann die grüne Farbe des Gallenfarbstoffes vollkommen verdecken.

c) Probe mit Jodtinktur (nach *Rosin*). Man überschichtet den Harn (10—15 cm^3) in einem Reagensglas mit einer 10fach verdünnten offizinellen Jodtinktur. Es entsteht an der Berührungsstelle der Flüssigkeiten ein grüner Ring, welcher sich stundenlang hält. Die Probe ist empfindlicher als die *Gmelin*sche.

d) Probe nach *Huppert*. 100 cm^3 Harn versetzt man mit kohlensaurem Natron bis zur deutlich alkalischen Reaktion und fällt die Gallenfarbstoffe mit Chlorbaryum oder Barythydrat im Überschusse aus. Man sammelt den gelben Niederschlag auf einem Filter und kocht ihn alsdann mit Alkohol, dem einige Tropfen verdünnter Schwefelsäure zugesetzt sind. Der Niederschlag wird dabei entfärbt und die Flüssigkeit erhält eine schöne grüne Farbe. Aus dieser alkoholischen Lösung kann der Farbstoff nach Verdünnen mit einem gleichen Volumen Wasser durch einige Kubikzentimeter Chloroform extrahiert werden. Das Chloroform färbt sich tief grün.

Diese Methode ist die sicherste und empfindlichste zum Nachweis der Gallenfarbstoffe im Harn.

D. Blutfarbstoff, Hämoglobin.

Man unterscheidet folgende Arten des Hämoglobins:

1. Oxyhämoglobin oder Sauerstoffhämoglobin.
2. Methämoglobin, enthält ebensoviel Sauerstoff wie das Oxyhämoglobin, aber in stärkerer Bindung.
3. Reduziertes Hämoglobin, enthält weniger Sauerstoff und bildet sich aus den beiden vorigen durch Reduktion.
4. Kohlenoxydhämoglobin.
5. Blausäuremethämoglobin.

Bei der Untersuchung des Harns kommen hauptsächlich nur die ersteren drei Arten des Hämoglobins in Betracht, und daher geben wir in der nachstehenden Tabelle eine Übersicht ihrer physikalischen und chemischen Eigenschaften.

Oxyhämoglobin	Methämoglobin	Reduz. Hämoglobin
Löslich in Wasser mit scharlachroter Farbe, nicht in Alkohol, kristallisierbar, wird in wässerigen Lösungen leicht zersetzt. Beim Erwärmen dieser Lösungen bildet sich schon bei 70° C ein brauner Niederschlag, welcher aus Eiweiß und Hämatin besteht. Verdünnte Lösungen sind gelblich-rot gefärbt, zeigen (bis zu 0·01%) charakteristische Absorptionsstreifen im Spektralapparat. Bei Einwirkung von Säuren und Alkalien zerfällt es ebenfalls in Hämatin und Eiweiß.	Lösungen braun gefärbt, kristallisiert in braunen Nadeln und Täfelchen. Entsteht aus Oxyhämoglobin sehr leicht durch Einwirkung von Säuren und sauren Salzen, daher sein Vorkommen im Harn. In sauren oder neutralen Lösungen zeigt es außer den Absorptionsstreifen des O-Hämoglobins noch zwei Streifen, von welchen der erste stärker ausgesprochen ist als die anderen.	In mäßig verdünnten Lösungen grünlichbraunrot gefärbt, entsteht aus Oxy- und Methämoglobin bei Einwirkung von reduzierenden Substanzen, z. B. nach Zusatz einiger Tropfen Schwefelammonium oder Zinnchlorür in ammoniakalischer Lösung. Zeigt nur einen breiten Absorptionsstreifen. Beim Schütteln mit Luft geht es in Oxyhämoglobin über. Mit Essig und einer Spur Kochsalz gibt es Hämin (salzsaures Hämatin, dunkelbraune rhombische Täfelchen).

Alle Arten des Hämoglobins gehören zu den Eiweißkörpern und daher gibt der Harn bei ihrer Gegenwart sämtliche Eiweißreaktionen.

Der Harn kann sämtliche Bestandteile des Blutes (Hämoglobin, rote Blutkörperchen, Fibrin) enthalten (Hämaturie) oder nur den Farbstoff allein (Hämoglobinurie). Die Anwesenheit von roten Blutkörperchen und Fibrin wird bei der mikroskopischen Untersuchung nachgewiesen; der Farbstoff durch folgende Reaktionen:

1. Die *Heller*sche Probe. Die Reaktion beruht auf der Bildung von Hämatin bei Einwirkung von Natronlauge. Das Hämatin wird durch die gleichzeitig sich abscheidenden Erdphosphate aufgenommen. Man versetzt 10—15 cm^3 Harn

mit Natronlauge bis zur stark alkalischen Reaktion und erwärmt bis zum Kochen; es entsteht ein flockiger, rot gefärbter Niederschlag. Die Farbe tritt bei geringen Hämoglobinmengen erst, nachdem der Niederschlag zu Boden gesunken ist, deutlich hervor.

Entsteht beim Erwärmen überhaupt kein Niederschlag (bei Abwesenheit von Erdphosphaten), so versetzt man den Harn mit einem gleichen Volumen normalen Harns und wiederholt die Probe.

Nach Gebrauch von Rheum, Senna, Cascara Sagrada und Santonin gibt der Harn eine ähnliche Reaktion. Der hämoglobinhaltige Harn unterscheidet sich dadurch, daß bei vorsichtigem Zusatz von Essigsäure sich nur ein Teil des Niederschlages auflöst, nämlich die Phosphate, während das Hämatin in rotbraunen Flocken zurückbleibt. In Harnen, welche die Produkte der genannten Arzneimittel enthalten, verschwinden nach Säurezusatz das Sediment und die Färbung vollständig.

2. Die *Almen*sche Probe beruht auf Übertragung des Sauerstoffs von Terpentinöl auf Guajakharz durch Hämoglobin, wobei das Guajak oxydiert wird.

Man überschichtet 10—15 cm^3 Harn mit einer Emulsion aus gleichen Teilen Guajaktinktur und altem (ozonisiertem) Terpentinöl. An der Berührungsstelle der Flüssigkeiten bildet sich zunächst ein weißer Ring (Ausscheidung des Harzes), welcher bei Gegenwart von Hämoglobin sich bald schön blau färbt. Alkalische Harne müssen angesäuert werden. Die Probe ist zwar noch empfindlicher als die *Heller*sche, ist aber für den Nachweis von Hämoglobin im Harn wenig geeignet, weil tierische Zellen, besonders Eiterzellen, eine ähnliche Reaktion verursachen können.

3. Die *Teichmann*sche Häminprobe beruht auf der Bildung von Chlorhämatin (Hämin) durch Einwirkung von Essigsäure und Kochsalz.

Man verwendet zu dieser Probe entweder einen auf dem Objektträger eingetrockneten Tropfen des stark bluthaltigen Harns oder eine Spur des bluthaltigen Harnsediments. Man kann auch die Probe mit einigen Flocken des rötlichen, bei

der *Heller*schen Probe gewonnenen Phosphatsediments ausführen (über die Ausführung der Probe siehe Untersuchung des Mageninhalts).

Die Probe ist genau und zuverlässig und ist besonders in solchen Fällen, wo die roten Blutkörperchen zerstört und der Harn durch starke bakterielle Trübung für die spektroskopische Untersuchung nicht geeignet ist, zu empfehlen.

4. Die spektroskopische Untersuchung.

Prinzip: Jede von den Hämoglobinarten besitzt die Fähigkeit, bestimmte Lichtstrahlen zu absorbieren, so daß sich im Spektrum bestimmte, für jede Hämoglobinart charakteristische dunkle Streifen — Absorptionsstreifen — bilden.

Von den verschiedenen Spektralapparaten sind für die Untersuchung des Harns am besten die leicht zu handhabenden und portativen Taschenspektroskope von *Browning* oder *Vogel* geeignet. Sie zeigen die Absorptionserscheinungen sogar deutlicher und schärfer als die meisten großen Apparate. Die Bestimmung der Lage der Absorptionsstreifen im Spektrum wird in diesen Apparaten dadurch erreicht, daß sie gleichzeitig mit dem Absorptionsspektrum durch eine besondere Vorrichtung (Vergleichsprisma) das normale Sonnenspektrum zeigen.

Zur spektroskopischen Untersuchung wird der Harn filtriert und nach Bedarf verdünnt; bei alkalischer Reaktion wird er mit Essigsäure angesäuert. Hierauf gießt man den Harn in ein Gefäß mit zwei planparallelen, farblosen Glaswänden (Hämatinometer)*, bringt dieses dicht vor den Spalt des Spektroskopes, so daß die Lichtstrahlen (einer Gas- oder Petroleumlampe oder des Tageslichtes) senkrecht durch die Flüssigkeit gehen müssen. Beim Betrachten des Spektrums bestimmt man die Lage der Absorptionsstreifen durch Vergleich mit dem gewöhnlichen Sonnenspektrum, welches mittelst einer einfachen Vorrichtung ein- und ausgeschaltet werden kann.

Die Eigenschaften der Spektra der bei der Untersuchung des Harns in Betracht kommenden Hämoglobinarten sind in der Tabelle nachzusehen.

---

* Anstatt des Hämatinometers kann auch ein gewöhnliches Reagensglas benutzt werden.

E. Hämatoporphyrin.

Hämatoporphyrin kann künstlich aus Hämatin durch Einwirkung konzentrierter Schwefelsäure und Behandlung der Lösung mit säurehaltigem Alkohol und Zinn oder Zink hergestellt werden. Es unterscheidet sich von Hämatin nur dadurch, daß es vollkommen eisenfrei ist. Im Harn ist Hämatoporphyrin bei verschiedenen Krankheiten nachgewiesen worden. Charakteristisch ist sein Auftreten nach Gebrauch von größeren Mengen von Sulfonal und Trional.

Hämatoporphyrinhaltiger Harn ist braunrot gefärbt, in dünnen Schichten gelbrot.

Nachweis. 20—25 cm^3 Harn werden mit einer aus gleichen Teilen gesättigter Baryumhydratlösung und 10%iger Chlorbaryumlösung bestehenden Mischung gefällt, der Niederschlag wird auf einem Filter gesammelt und mit Wasser und einmal mit Alkohol gewaschen. Dann verreibt man den Niederschlag mit einigen Tropfen Salzsäure und einer geringen Menge Alkohol, läßt einige Zeit stehen, erwärmt alsdann auf dem Wasserbade und filtriert. Das saure, rotgefärbte Filtrat zeigt bei der spektroskopischen Untersuchung zwei Absorptionsstreifen, einen vor *D* und einen zweiten breiteren zwischen *D* und *E*.

Macht man die Lösung durch Ammoniak alkalisch, so nimmt die Lösung einen gelben Farbenton an und zeigt im Spektrum vier Streifen vom roten bis zum violetten Ende des Spektrums. Der erste und dritte Streifen sind schmal, der zweite und vierte breit.

F. Melanin.

Der normale Harn enthält kein Melanin. Melanurie ist eine pathologische Erscheinung, und zwar tritt Melanin im Harn von Kranken, die an melanotischen Tumoren leiden, auf. Der frisch gelassene Harn enthält wahrscheinlich nur das Chromogen-Melanogen, welches erst durch Oxydation in Melanin übergeführt wird. Der melaninhaltige Harn ist dunkel gefärbt und wird beim Stehen an der Luft schwarzbraun bis schwarz.

Nachweis. Man säuert den Harn mit verdünnter Schwefelsäure an und gibt Eisenchlorid oder Kaliumbichromatlösung zu, es entsteht eine dunkle Färbung. Dieselbe dunkle Färbung

entsteht nach Zusatz von Chlor- oder Bromwasser zum mit Schwefelsäure angesäuerten Harn. Ein Überschuß der Oxydationsmittel entfärbt den Harn, wobei sich ein schmutziggelber Niederschlag bildet.

14. Die Diazoreaktion.

Die Substanzen, welche diese von *Ehrlich* angegebene Reaktion verursachen, sind bis jetzt noch nicht bekannt. Normale Harne geben die Reaktion nicht, sie tritt nur bei fieberhaften Erkrankungen im Harne auf, besonders häufig bei Abdominaltyphus, Tuberkulose und Masern.

Zur Ausführung der Reaktion sind zwei Lösungen notwendig:

1.	Natrii nitrosi	0·5
	Aquae destillatae	100·0
2.	Acidi sulfanylici	5·0
	Acidi hydrochlorici	50·0
	Aquae destillatae	1000·0

Man mischt ex tempore 2 cm^3 der ersten mit 98 cm^3 der zweiten Lösung. Die Reaktion wird folgenderweise ausgeführt:

10—15 cm^3 Urin versetzt man im Reagensglas mit einer gleichen Menge der Reagensmischung, schüttelt kräftig bis zur Schaumbildung durch und gibt zirka 1 cm^3 Ammoniak zu. Die Reaktion ist als positiv zu betrachten, wenn der Schaum und die Flüssigkeit sich scharlachrot färben. Normale Urine geben bei dieser Probe nur eine gelbe Färbung. Nach 24stündigem Stehen der positiv ausgefallenen Probe setzt sich ein Niederschlag ab, dessen oberer Teil blau, grün oder schwarz gefärbt ist.

Eine ähnliche Reaktion zeigt der Harn nach innerem Gebrauch von Naphthalin. Dagegen verschwindet nach Einnahme von Gerbsäurepräparaten die vorher deutlich ausgesprochene Reaktion vollständig.

15. Zufällige Bestandteile des Harns.

Von der großen Zahl der zufälligen Harnbestandteile, welche hauptsächlich aus den eingeführten Arzneimitteln her-

rühren, sollen hier nur diejenigen berücksichtigt werden, welche einerseits leicht nachgewiesen werden können, andrerseits eine gewisse klinische resp. therapeutische Bedeutung haben.

1. Quecksilber. Nachweis nach *Prof. Stukowenkoff.* 5 cm^3 Hühnereiweiß werden mit einer gleichen Menge gesättigter Kochsalzlösung in einem Mörser tüchtig verrieben und in 500 cm^3 Urin aufgelöst. Die Flüssigkeit wird alsdann auf einem Wasserbade bis zur vollkommenen Gerinnung des Eiweiß erwärmt. Das ausgeschiedene Eiweiß wird auf einem Filter gesammelt, zwischen Fließpapier getrocknet und dann in einem Mörser mit zirka 10 cm^3 konzentrierter Salzsäure zerrieben. Man fügt noch 40 cm^3 Salzsäure zu und läßt die Flüssigkeit, in welche eine Kupfer- oder Messingspirale hineingebracht wird, in einem Becher- oder Zylinderglase 24 Stunden stehen. Durch die Salzsäure wird das Eiweiß und das mitgerissene Quecksilber aufgelöst. Letzteres bildet auf der Oberfläche der Kupferspirale ein Amalgam. Die Spirale wird zuerst mit kaltem, dann mit heißem Wasser ausgewaschen, nachher mit Alkohol und Äther abgespült und dann an der Luft getrocknet. Hierauf wird die Spirale in ein enges, an einer Seite zugeschmolzenes trockenes Glasröhrchen eingeführt. An dem oberen Rande der Spirale wird ein kleines Kriställchen Jod durch leichtes Erwärmen sublimiert. Dann erwärmt man vorsichtig bei beständigem Drehen das Röhrchen von unten bis zum oberen Rande der Kupferspirale. Das Quecksilber wird dabei sublimiert und es bildet sich ein ziegelroter Ring von Quecksilberjodid. Die Breite des Ringes ist, wenn alles genau ausgeführt, der Quecksilbermenge proportional, und somit ist die Möglichkeit einer quantitativen Bestimmung gegeben. Man muß nur dazu eine Skala, d. h. eine Reihe von Quecksilberjodid-Ringen, welche aus bestimmten Quecksilbermengen (1, 2, 3, 4 usw. *mg*) gewonnen sind, besitzen und den erhaltenen Ring mit der Skala vergleichen.

Die Methode ist sehr empfindlich. 0·0005 Quecksilber sind noch sehr deutlich nachweisbar. Wenn der Ring makroskopisch nicht scharf sichtbar ist, so können die charakteristischen roten Quecksilberjodid-Kristalle mit einer kleinen Vergrößerung mikroskopisch leicht nachgewiesen werden.

2. Arsen wird im Harn nach *Gutzeit* wie folgt nachgewiesen: 1 cm^3 Urin versetzt man in einem Zylinderglas oder weiten Reagensglas mit 4 cm^3 verdünnter Schwefel- oder Salzsäure und einem Stückchen arsenfreien Zinks. Man verschließt das Gefäß mit einem Wattebausch und bedeckt mit einem mit konzentrierter Silbernitratlösung befeuchteten Filter. Es entsteht eine zitronengelbe Färbung des Filters, welche bei längerem Stehen durch Bildung von metallischem Silber (aus dem gelben Arsensilber) in eine schwarze übergeht. Im Harn ist die Probe ziemlich zuverlässig, weil derselbe äußerst selten Substanzen erhält, welche die Reaktion beeinträchtigen können.

3. Jodalkalien resp. organische Jodpräparate (Jodol, Jodoform usw.). Man versetzt 10—15 cm^3 Harn mit 5 bis 10 Tropfen konzentrierter gelber Salpetersäure und 1—2 cm^3 Chloroform und kehrt das mit einem Korken verschlossene Reagensglas mehrmals um. Das Chloroform färbt sich durch das freigewordene Jod schön violettrot. Die Färbung verschwindet nach Zusatz einer geringen Menge Natriumthiosulfat. Wie schon oben erwähnt wurde, scheidet sich auch bei der Indikanprobe Jod aus und verursacht ebenfalls eine violettrote Färbung des Chloroforms. Die Proben erlauben geringe Mengen Jods im Urin (0·005) mit Sicherheit nachzuweisen.

4. Bromalkalien und Brompräparate werden gleichfalls bei der Indikanprobe entdeckt. Die Probe ist nicht empfindlich (nicht unter 0·1 Bromkalium nachweisbar).

5. Chrysophansäure (Dioxymethylanthrachinon) erscheint im Harn nach Gebrauch von Rheum, Senna, Chrysarobin und Cascara Sagrada. Der Harn zeigt eine intensiv gelbe oder grünlichgelbe Färbung. Alkalische Harne sind rot gefärbt. Nach Zusatz von Alkalien färbt sich der gelbe oder grünlichgelbe, sauer reagierende Harn ebenfalls rot. Die rote Farbe verschwindet nach Zusatz von Essigsäure (Unterschied von Blutfarbstoff). Bei der Indikanprobe erhält man eine grünliche Färbung des Chloroforms.

Chrysophansäurehaltige Harne geben eine starke Reduktion bei der *Nylander*schen Probe.

6. Salizylsäure und ihre Präparate (Salol, Salipyrin, Salophen usw.). Die Salizylate gehen als Salizylursäure, als Ätherschwefelsäure, als Glykuronsäureverbindungen und teilweise unverändert in den Harn über und können leicht ganz kurze Zeit nach dem Einnehmen im Harn nachgewiesen werden. Der Harn zeigt meist eine dunkle Färbung, welche beim Stehen zunimmt.

Zum Nachweis der Salizylsäurepräparate versetzt man den Harn mit 5—10 Tropfen Eisenchlorid; es entsteht eine blauviolette intensive Färbung; bei geringeren Mengen färbt sich die Flüssigkeit dunkelrot. Da auch andere zufällige Substanzen des Harns (Antipyrin, Phenazetin) eine ähnliche Reaktion geben, so empfiehlt *Marcuse* zur Identifizierung der Salizylsäure folgendes Verfahren: Man versetzt die bereits ausgeführte Probe tropfenweise mit Salzsäure, bis eben noch eine deutliche rote Farbe vorhanden ist (bei weiterem Zusatz verschwindet die Färbung vollkommen durch Zersetzung des Eisensalizylats). Dann schüttelt man die Probe mit Essigäther, wobei die rote Färbung verschwindet; war die Reaktion durch Antipyrin oder Phenazetinderivate verursacht, so entfärbt sich die Flüssigkeit nicht.

7. Antipyrin. Der Harn ist nach Gebrauch von großen Mengen Antipyrin gelb bis blutrot gefärbt und zeigt eine grünlichrote Fluoreszenz.

Nachweis. *a)* Mit Eisenchlorid erhält man eine dunkelrote Färbung, welche weder durch Kochen noch durch Ausschütteln mit Essigäther verschwindet.

b) Versetzt man den Harn mit einem Tropfen Salzsäure und *Lugol*scher Jodjodkalilösung, so entsteht ein rubinrotes, kristallinisches Sediment *(Marcuse)*.

8. Phenazetin scheidet sich im Harne zum Teil als Phenetidin, zum Teil als Paraamidophenol und als gepaarte Glykuronsäureverbindung aus.

Nachweis. *a)* Man versetzt den Harn mit 2 Tropfen Salzsäure und 2 Tropfen einer 1%igen Natriumnitritlösung; setzt man alkalische wässerige α-Naphthollösung und etwas Natronlauge zu, so tritt Rotfärbung auf, welche nach Zusatz von Salzsäure violett wird.

b) Mit Eisenchlorid färbt sich der Harn braunrot.

9. Kopaivabalsam. *a)* Mit Salzsäure versetzt, gibt der Harn eine rosarote Färbung, welche beim Kochen in Rotviolett übergeht.

b) Bei der Ausführung der Eiweißproben erhält man eine starke Trübung, welche durch Zusatz von Alkohol oder Petroläther verschwindet.

10. Urotropin gelangt rasch in den Harn und läßt sich in demselben schon nach Verlauf einer halben Stunde mittelst gesättigten Bromwassers nachweisen, mit welchem es einen gelben, im Überschuß des Harns löslichen Niederschlag bildet. Ob Urotropin im Harn freies Formaldehyd abspaltet, ist noch nicht festgestellt. Letzteres wird im Urin mit Phloroglucin und Natronlauge nachgewiesen: es entsteht eine rote Färbung.

11. Phenol (Karbolsäure) scheidet sich im Harn zum größten Teile als Phenolschwefelsäure aus. Der Harn ist grünlichbraun gefärbt und wird beim Stehen noch dunkler. Die dunkle Farbe des Phenolharns hängt nach *Baumann* mit der Bildung von Hydrochinon zusammen; letzteres gibt bei weiterer Oxydation die braungefärbten (noch nicht näher bekannten) Substanzen.

Nachweis. Das Phenol kann nicht direkt im Harn nachgewiesen werden (da derselbe kein freies Phenol enthält), sondern muß erst isoliert werden. Da aber der normale Harn auch geringe Mengen von Phenolverbindungen enthält (zirka 0·03 in der Tagesmenge), so wird nur eine starke Vermehrung derselben für das Vorhandensein einer Karbolvergiftung beweisend sein. Zur Isolierung des Phenols destilliert man eine größere Menge Harn nach Zusatz von Schwefelsäure (auf 100 cm^3 5—10 cm^3 Schwefelsäure) so lange, bis das aus der Ätherschwefelsäure abgespaltene Phenol abdestilliert ist.* Man neutralisiert das Destillat mit reinem kohlensaurem Natron und destilliert nochmals. Mit dem Destillat werden folgende Proben ausgeführt:

---

* Man erkennt es daran, daß das Destillat mit Bromwasser keine Trübung resp. Niederschlag mehr gibt.

a) Nach Zusatz einiger Tropfen einer neutralen Eisenchloridlösung blauviolette Färbung.

b) Mit Bromwasser entsteht ein gelblichweißer kristallinischer Niederschlag von Tribromphenolbrom. Der Niederschlag löst sich in Natronlauge und wird aus der alkalischen Lösung durch Salzsäure wieder als Tribromphenol in gelben, kristallinischen Nadeln ausgefällt.

c) Mit salpetriger Säure scheidet sich Stickstoff aus.

V. Die quantitative chemische Untersuchung des Harns.

1. Eiweißbestimmung.

a) Methode von *Roberts* und *Stolnikoff*, modifiziert von *Brandberg*.

Prinzip. Enthält der Harn in 100 cm^3 0·0033 g Eiweiß, d. h. 0·033 ‰, so wird bei der *Heller*schen Ringprobe die ringförmige Trübung erst 2—3 Minuten nach der Ausführung der Probe erscheinen. Auf dieser Tatsache beruht die Methode. Man verdünnt den zu untersuchenden Harn so lange mit Wasser, bis bei der *Heller*schen Probe der Ring erst nach 2—3 Minuten auftritt. Aus der dazu notwendigen Verdünnung läßt sich der Eiweißgehalt des unverdünnten Harns leicht berechnen.

Ausführung. Man bereitet zuerst eine 10fache Verdünnung des zu untersuchenden Harns: man mißt mit einer Pipette 5 cm^3 Harn ab, bringt ihn in ein Zylinderglas und gibt 45 cm^3 Wasser zu. Das Gemisch wird durchgeschüttelt und ein Teil desselben zu einer *Heller*schen Probe verwendet; entsteht dabei nach 2—3 Minuten kein Ring, so ist die Verdünnung zu groß, und es wird infolgedessen aus dem unverdünnten Harn eine 5- oder 3fache Verdünnung gemacht. Erscheint aber bei der 10fachen Verdünnung der Ring sofort, so verdünnt man den Harn weiter, indem man aus der 10fachen eine 30-, 50-, 100fache Verdünnung herstellt, bis man zu einer Verdünnung gelangt, bei welcher der Ring erst nach 2 bis 3 Minuten erscheint. Ist man in der Ausführung der Methode ein wenig geübt, so ist es leicht, nach der Intensität der ringförmigen Trübung annähernd die notwendige Verdünnung zu schätzen, und man wird daher die ganze Bestimmung ziem-

lich rasch ausführen können. Die Menge des Eiweißes im Liter Urin erhält man durch Multiplikation der Zahl 0·033 mit der Zahl der Verdünnung. Ist z. B. der Ring nach 2 bis 3 Minuten in der 30fachen Verdünnung des Urins erschienen, so enthält der unverdünnte Urin $0{\cdot}033 \times 30 = 0{\cdot}99\,^0/_{00}$ Eiweiß. Die Methode gibt für klinische Zwecke vollkommen brauchbare Resultate. Sie muß aber sorgfältig und genau ausgeführt werden, besonders muß darauf geachtet werden, daß die *Heller*sche Probe jedesmal lege artis vorgenommen wird.

b) Methode nach *Essbach.*

Prinzip. Das *Essbach*sche Reagens besteht aus einer Lösung von 10 *g* Pikrinsäure und 20 *g* Zitronensäure im Liter Wasser. Mit diesem Reagens wird das Eiweiß aus einem bestimmten Volumen Harn ausgefällt und aus der Höhe des erhaltenen Eiweißniederschlages wird nach einer empirischen Skala der Gehalt des Harns an Eiweiß geschätzt.

Ausführung. Man füllt den *Essbach*schen Albuminometer (ein graduiertes Röhrchen) mit dem filtrierten Urin bis zur Marke *U*, darauf wird bis zur Marke *R* die Reagenslösung zugegossen, das Röhrchen mit dem Kautschukstopfen verschlossen und ohne zu schütteln 10—12 mal umgekehrt. Man läßt das Röhrchen in einem Gestell aufrecht stehen und liest nach 24 Stunden die Höhe des Niederschlages ab. Die Zahlen zeigen in Grammen die Eiweißmenge in 1000 cm^3 Urin an. Der Harn darf nicht mehr als $4\,^0/_{00}$ Eiweiß enthalten; bei größerem Eiweißgehalt ist der Urin entsprechend zu verdünnen. Die Methode gibt keine genauen und verläßlichen Resultate. Nicht selten bildet sich auch in eiweißfreien Harnen ein Niederschlag.

c) Gewichtsanalytische Bestimmung.

100 cm^3 des filtrierten Harns werden mit 1—2 Tropfen Essigsäure versetzt und in einem Wasserbade so lange erhitzt, bis eine flockige Ausscheidung des Eiweißes stattgefunden hat. Der Niederschlag wird auf einem vorher bei 110° getrockneten und gewogenen Filter gesammelt, mit heißem Wasser und dann mit Alkohol und Äther gewaschen, bei 110° getrocknet und dann gewogen. Das Filter mit dem Inhalt wird darauf im Platintiegel verbrannt, verascht und gewogen und die Asche von dem Eiweißgewicht abgezogen.

Man kann auch anstatt der Gewichtsmethode das koagulierte und ausgewaschene Eiweiß nach *Kjeldahl* behandeln (s. u.) und den Eiweißstickstoff bestimmen. Man multipliziert alsdann die gefundene Stickstoffmenge mit 6·25 und erhält die Eiweißmenge.

Diese Methode liefert die einzig richtigen Resultate, ist aber leider für klinisch-praktische Zwecke zu kompliziert und zeitraubend.

2. Zuckerbestimmung.

a) Durch Polarisation. Man bedient sich am besten zur quantitativen Bestimmung des Zuckers eines Halbschattenapparates, welcher für weißes Lampenlicht eingerichtet ist und eine direkte Ablesung des Zuckergehalts in Prozenten ermöglicht. Zum Zwecke der Polarisation muß der Harn erst entsprechend vorbereitet werden, und zwar sind folgende zwei Bedingungen zu erfüllen:

1. Der Harn muß vollkommen klar und darf nicht intensiv gefärbt sein. Trübe Harne werden daher filtriert, während stark gefärbte mit Bleiessig entfärbt werden: zu zirka 50 cm^3 Harn setzt man einige Messerspitzen gepulverten, neutralen Bleiazetats, schüttelt die Flüssigkeit durch und filtriert durch ein trockenes Filter.

2. Der Harn muß frei von Eiweiß sein, da dasselbe nach links dreht; bei geringem Eiweißgehalt (unter 0·1 %) kann man diese Linksdrehung vernachlässigen; bei größerem Eiweißgehalt muß das Eiweiß durch Kochen entfernt und der Harn auf sein ursprüngliches Volumen aufgefüllt werden.

Den klaren, möglichst farblosen Harn gießt man in das Beobachtungsröhrchen des Polarisationsapparates, wobei man darauf achtet, daß die Flüssigkeit eine Kuppe über dem Röhrchen bildet; dann schiebt man von der Seite her die gut gereinigte und vollkommen trockene Deckplatte auf, so daß keine Luftblase in dem Röhrchen ist; jetzt fügt man die Messingkappe darüber. Man stellt alsdann im Apparat den Nullpunkt ein und legt darauf das Beobachtungsröhrchen hinein. Enthält der Harn Traubenzucker, so wird man eine Verdunklung der rechten Hälfte des Gesichtsfeldes sehen. Durch

Drehung der Schraube stellt man die Quarze wieder so ein, daß sie wie bei dem Nullpunkt gleich hell sind. Die Skala zeigt dann den Prozentgehalt an Zucker.

Für die Praxis ist die Polarisationsmethode genügend genau. Nur größere Mengen von Glukuronsäureverbindungen, β-Oxybuttersäure und Lävulose können Fehler veranlassen.

b) Gärungsmethode nach *Roberts*.

Prinzip. Der Zuckergehalt wird aus dem Unterschiede des spezifischen Gewichtes vor und nach der Gärung bestimmt. Durch Versuche hat *Roberts* festgestellt, daß das Zurückgehen des spezifischen Gewichts um 0·001 einem Zuckergehalt von 0·230 % entspricht.

Ausführung. Man bestimmt das spezifische Gewicht des Harns bei 15° C, dann läßt man 100—200 *cm*³ Harn mit Hefe (haselnußgroßes Stückchen) in einem Kolben vergären. Nach 24—36stündigem Stehen überzeugt man sich (durch die üblichen qualitativen Proben), daß der Zucker vollkommen verschwunden ist und, wenn das der Fall ist, bestimmt man wieder das spezifische Gewicht bei 15° C. Beispiel:

Das spezifische Gewicht vor der Gärung	1·030
nach dem Vergären	1·020
Differenz	0·010

Der Harn enthält $0{\cdot}230 \times 10 = 2{\cdot}30\%$ Zucker.

Die Methode gibt unter der Bedingung, daß die Bestimmung des spezifischen Gewichts äußerst sorgfältig ausgeführt wird und der Harn nicht unter 0·5 % Zucker enthält, ziemlich genaue Resultate.

c) Die Gärungsmethode nach *Lohnstein*. Das *Lohnstein*sche Saccharometer besteht aus einem U-förmig gestalteten Glasgefäß, dessen kürzerer Schenkel kugelig ist und an seinem oberen Ende durch einen Stöpsel luftdicht abgeschlossen werden kann. Der Stöpsel enthält seitlich eine Durchbohrung, der eine eben solche am Halse der Kugel entspricht.

Zur Ausführung der Zuckerbestimmung gießt man die dem Apparate beigegebene Quecksilbermenge vollständig bei beiderseits offenem Rohr in den Apparat hinein. Von dem zu untersuchenden Harn bringt man mit der dem Apparate beigegebenen *Pravaz*-Spritze 0·5 *cm*³ auf die Oberfläche des

in der Kugel befindlichen Quecksilbers. Man spült jetzt die Spritze mit gewöhnlichem Wasser von den zurückgebliebenen Harnresten ab und gibt 1—2 Teilstriche eines Hefebreies (aus einem Stückchen Preßhefe mit einigen Tropfen Wasser zubereitet) zu. Nunmehr bringt man den mit dem dem Apparate beigegebenen Dichtungsmittel befetteten Stöpsel auf den Hals der Kugel, so daß das seitlich an ihm befindliche Loch und die entsprechende Öffnung am Halse der Kugel nebeneinander zu liegen kommen. Jetzt setzt man die Skala auf das Rohr des Apparates. Liegt die Kuppe der Quecksilbersäule nicht genau in der Höhe der Nullinie, so bringt man sie durch geringes Neigen des Apparates zur Einstellung und dreht darauf den Stöpsel so, daß die Löcher am Kugelhalse nicht mehr koinzidieren. Endlich bringt man auf den Stöpsel das dem Apparate beigegebene Gewicht und überläßt den Harn im Apparate entweder bei Zimmertemperatur oder im Thermostaten der Gärung. Bei einer Temperatur von 32—38° C ist die Gärung auch bei hohen Zuckergehalten in 3—4 Stunden beendet, bei gewöhnlicher Zimmertemperatur dauert sie 6—8 Stunden. Auf dem abnehmbaren Rahmen befinden sich zwei Skalen, von denen die eine für 20° C, die andere für 35° C gilt. In den meisten Fällen wird man sich ohne merklichen Fehler mit dem Ablesen an der für 20° C gültigen Skala begnügen können; eine genauere Bestimmung kann mittelst folgender Formel gemacht werden;

$$p = p_{35} + \frac{p_{20} - p_{35}}{15}(35 - T)$$

wobei p_{20} und p_{35} die Ablesungen an den beiden Skalen sind und T die Temperatur ist, bei welcher der Urin in den Apparat gefüllt und auf die er nach Beendigung der Gärung wieder abgekühlt wurde.

Nach Beendigung einer Bestimmung muß der Apparat gereinigt werden. Man dreht zuerst den Stöpsel, bis die Löcher wieder einander gegenüberstehen, dann entfernt man den Stöpsel, saugt das Gemisch von Harn und Hefe mit einem Wattebausch auf und spritzt die Kugel mit einem Wasserstrahl aus einer Spritzflasche so lange aus, bis das Wasser

klar abfließt. Den Rest des Wassers entfernt man aus der Kugel mit einem dünnen Wattebausch. Der *Lohnstein*sche Apparat ist für klinisch-praktische Zwecke sehr zu empfehlen. Er leistet besonders gute Dienste in Fällen mit sehr geringem Zuckergehalt, weil er genaue Ablesungen von Zehntel- und sogar halben Zehntel-Prozenten gestattet.

3. Bestimmung des gesamten Stickstoffes.

Der Stickstoffgehalt des Harns wird gewöhnlich nach der Methode von *Kjeldahl* bestimmt.

Das Prinzip des Verfahrens besteht darin, daß sämtliche stickstoffhaltige Substanzen durch Kochen mit Schwefelsäure in Ammonsulfat übergeführt werden. Aus dem letzteren wird das Ammoniak durch Übersättigung mit Natronlauge frei gemacht und in titrierter Schwefelsäurelösung aufgefangen. Aus der Menge der durch Ammoniak gebundenen Säure wird der NH_3-Gehalt und aus dem letzteren der N-Gehalt berechnet.

Ausführung: 5 cm^3 Harn versetzt man in einem sogenannten *Kjeldahl*-Kolben (aus hartem Glase) mit 10 cm^3 *Kjeldahl*-Schwefelsäure (ein Gemisch aus 3 Teilen reiner und 1 Teil rauchender Schwefelsäure) und einigen Tropfen einer gesättigten Kupfersulfatlösung. Der Kolben wird alsdann auf einem Sandbade unter dem Abzuge so lange erhitzt, bis die Flüssigkeit sich entfärbt hat. Man läßt die Flüssigkeit erkalten und gießt dann unter Umschwenken zirka 50 cm^3 destilliertes Wasser zu. Die wiederum heiß gewordene Flüssigkeit bringt man in einen einen Liter fassenden Destillationskolben und spült 2—3mal mit Wasser nach. Der Kolbeninhalt wird jetzt mit 40% Natronlauge (zirka 40—60 cm^3) bis zur alkalischen Reaktion versetzt und sofort destilliert. Der Zusatz von Natronlauge soll rasch ausgeführt werden, um Verluste an Ammoniak zu vermeiden. Das Destillierrohr muß einen Kugelansatz haben, um das Überspritzen von Natronlauge in die Vorlage zu verhindern. Das Destillat wird in einer mit 50 cm^3 $^1/_{10}$-Normalschwefelsäure beschickten Vorlage gesammelt. 20—30 Minuten nach Beginn des Kochens ist die Destillation vollendet, was eventuell durch starkes Stoßen der Flüssigkeit (infolge der beginnenden Ausscheidung von Natriumsulfat) zu erkennen ist. Man öffnet dann den Kork des Destillationskolbens, dreht

die Flamme aus, spült das Destillierrohr mit Wasser in die Vorlage aus und titriert die letztere mit $^1/_{10}$-Normalnatronlauge unter Anwendung von Rosolsäure als Indikator. Die Lauge wird so lange zugesetzt, bis eine bleibende Rosafärbung der Flüssigkeit entsteht. Die Anzahl der verbrauchten Kubikzentimeter $^1/_{10}$-Normallauge zieht man von der Zahl der in Vorlage gebrachten Kubikzentimeter $^1/_{10}$-Normalschwefelsäure ab. Die Differenz mit 0·0014 multipliziert ergibt die Zahl der in der angewandten Harnmenge enthaltenen Gramm Stickstoff, woraus der Prozentgehalt berechnet wird. Es empfiehlt sich, zur Kontrolle gleichzeitig 2 Proben aus demselben Harn zu verarbeiten.

4. Harnstoffbestimmung.

a) Nach *Freund* und *Töpfer*.

Prinzip. Der Harnstoff wird mit Alkohol extrahiert und mit Oxalsäure in ätherischer Lösung ausgefällt; im entstandenen Niederschlage, welcher aus oxalsaurem Harnstoff besteht, wird der Stickstoffgehalt nach *Kjeldahl* bestimmt und gleichzeitig der Gehalt an Oxalsäure titrimetrisch ermittelt.

Ausführung. 5 cm^3 Harn und 5 cm^3 absoluter Alkohol werden auf dem Wasserbad zur Trockne eingedampft und mehrmals mit absolutem Alkohol unter Zerreiben extrahiert. Man filtriert in einen *Kjeldahl*-Kolben, läßt den Alkohol im Wasserbade bis auf Spuren abdunsten und übergießt alsdann mit circa 70 cm^3 einer gesättigten, ätherischen Oxalsäurelösung. Man läßt den entstandenen Niederschlag absetzen und gießt die ätherische Lösung auf ein kleines Filter, indem man die Hauptmenge des Sediments im Kolben läßt. Man wäscht den Kolbeninhalt mit ca. 60—80 cm^3 Äther in mehreren Portionen, wobei der Äther immer auf das Filter gegossen wird. Wenn der Äther vom Filter abgedunstet ist, wird der Inhalt des Filters in den Kolben gewaschen und der Kolbeninhalt einer Bestimmung des Stickstoffs nach *Kjeldahl* unterworfen. Die ermittelte Menge des Stickstoffs multipliziert man mit $^{15}/_7$ und erhält den Harnstoffgehalt.

Vor der Ausführung der *Kjeldahl*-Bestimmung kann man den Kolbeninhalt mit $^1/_{10}$-Normalnatronlauge titrieren (Indikator Phenolphthalein) und auch auf diese Weise den Harnstoffgehalt bestimmen. Die Titration gibt aber etwas zu hohe Werte für den Harnstoff. Jedem Kubikzentimeter $^1/_{10}$ NaOH ent-

spricht 0·006 Harnstoff. Die Methode gehört (wenn die *Kjeldahl*-Bestimmung angewandt wird) zu den genauesten.

b) Nach *Knop-Hüfner.*

Prinzip. Der Harnstoff wird durch eine alkalische Lösung von unterbromigsaurem Natron in Stickstoff, Kohlensäure und Wasser zersetzt:

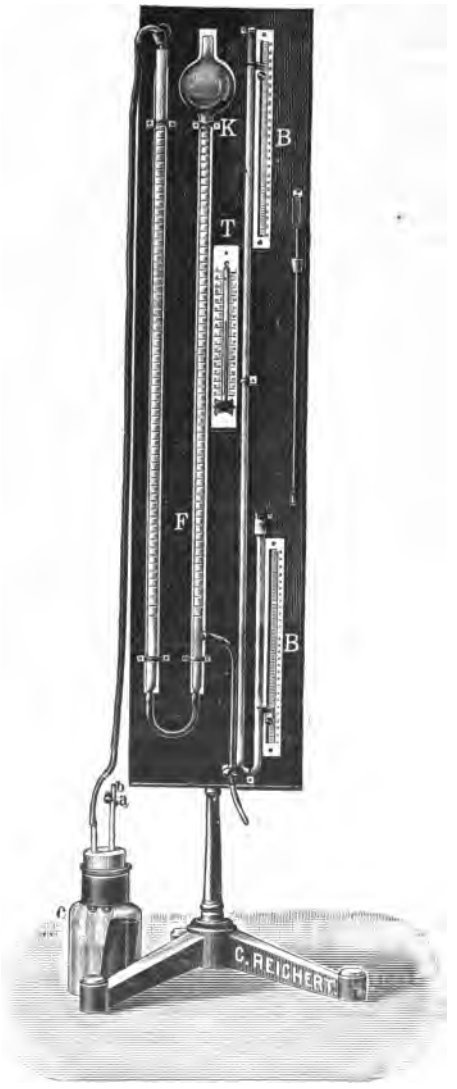
$$CO\begin{cases}NH_2\\NH_2\end{cases} + 3\,BrONa = CO_2 + 2\,H_2O + 2\,N$$

Die Kohlensäure wird vom Natron gebunden, während die Menge des entwickelten Stickstoffs volumetrisch bestimmt wird. Aus derselben wird der Harnstoff berechnet.

Ausführung. Die Bestimmung wird am bequemsten mit dem neuerdings von *Jolles* konstruierten Apparate ausgeführt: Das Azotometer von *Jolles* (Fig. 33) besteht aus einem Schüttelgefäß und zwei Maßröhren. Diese beiden Hauptteile des Apparates sind durch einen Gummischlauch verbunden. In dem Schüttelgefäß *(c)* befindet sich ein kleineres zylindrisches Gefäß aus Hartgummi oder Glas. Durch den Gummistopfen des Schüttelgefäßes läuft außer dem oben erwähnten Gummischlauch, der das Gefäß mit den Maßröhren verbindet, noch ein zweites Röhrchen mit freiem Ende durch. Dieses Röhrchen wird von außen durch einen Quetschhahn geschlossen. Die Bestimmung des Harnstoffs wird folgenderweise ausgeführt:

10 cm^3 des filtrierten Harns werden in einem Maßkölbchen von 100 cm^3 Inhalt mit zirka 30 cm^3 destilliertem Wasser und einer zur Fällung ausreichenden Menge salzsäurehaltiger Phosphorwolframsäure (100 cm^3 HCl von spez. Gew. 1·124 + 900 cm^3 10%iger Phosphorwolframsäure) versetzt. Das Kölbchen wird auf dem Wasserbade $^1/_4$ Stunde unter Umschütteln erwärmt, 4 Stunden stehen gelassen, dann mit destilliertem Wasser bis zur Marke aufgefüllt, umgeschüttelt und durch ein trockenes Filter filtriert. Man entnimmt mit einer Pipette 25 cm^3 des Filtrats (= 2·5 Harn), bringt es in das Schüttelgefäß des Azotometers und setzt unter Umrühren so lange vorsichtig Lauge hinzu, bis die Lösung alkalische Reaktion zeigt. In das kleine, innere Gefäß bringt man 30 cm^3 Bromlauge (100 g Natriumhydrat werden in 250 cm^3 Wasser gelöst und zu der erkalteten Lösung 25 g Brom zugesetzt). Das innere Gefäß ist am besten mit einer Pinzette in das Schüttelgefäß hinein-

Fig. 33.



zubringen, um eine Vermengung beider Flüssigkeiten zu vermeiden. Die Maßröhren werden jetzt bei offenem Quetschhahn des Schüttelgefäßes mit gewöhnlichem Wasser bis zur Marke 0 gefüllt, und zwar so, daß die Flüssigkeit in beiden Röhren dasselbe Niveau zeigt. Jetzt wird der Quetschhahn geschlossen und das Schüttelgefäß so geneigt, daß beide Flüssigkeiten sich mischen, wobei sofort eine lebhafte Gasentwicklung eintritt. Man läßt alsdann in dem Maße, als die Flüssigkeit in dem einen Rohre steigt, durch das unten mit einem Hahn versehene Ausflußrohr soviel Wasser abfließen, daß dasselbe in diesem Rohre um 1 bis 2 cm^3 höher steht als in dem anderen Rohre. Man schüttelt das Gefäß einige Minuten, wobei darauf zu achten ist, daß keine Flüssigkeit in das freie Ende der Glasröhre gelangt. Sobald die Gasentwicklung aufgehört hat, wartet man 15 Minuten, stellt dann das Wasser in den Röhren auf gleiches Niveau ein und ließt den Wasserstand ab. Nach der Anzahl der entwickelten Kubikzentimeter Stickstoffgas berechnet man den Harnstoffgehalt folgendermaßen:

Man stellt Temperatur und Barometerstand fest* und multipliziert die Anzahl der gefundenen Kubikzentimeter N mit dem der abgelesenen Temperatur und dem Drucke entsprechenden Koeffizienten der beigegebenen Tabelle.

Beispiel: Abgelesen 18·6 cm^3, Temperatur 16° C, Barometerstand 760; Koeffizient der Tabelle 0·998.

Harnstoffgehalt $0{\cdot}998 \times 18{\cdot}6 = 18{\cdot}56\,g$ im Liter. Die Tabelle ermöglicht also, direkt den Promillegehalt des Harnstoffs zu bestimmen.

Die Bestimmung des Harnstoffs mit dem Azotometer kann für rasch orientierende Zwecke sehr vereinfacht werden, indem man die Ausfällung mit Phosphorwolframsäure nicht ausführt. Die Ausführung der Bestimmung dauert dann im ganzen 15—20 Minuten: Man mißt mit einer genau geeichten Pipette 2·5 cm^3 Harn ab und bringt denselben in das kleine Schüttelgefäß. In das große Gefäß bringt man 30 cm^3 Bromlauge, welche mit destilliertem Wasser auf ca. 100 cm^3 verdünnt wird, und bestimmt den Stickstoff in der oben angegebenen Weise. Der Harnstoffgehalt wird nach der Tabelle berechnet:

* Wie auf der Fig. 33 zu sehen ist, sind ein Thermometer (T) und ein Barometer (B) dem Apparate beigegeben.

Tabelle zur

1 cm^3 Stickstoff entspricht Grammen

Barometerstand	10°	12°	14°	15°	16°
700	0·934	0·943	0·926	0·922	0·917
2	0·945	0·937	0·929	0·925	0·920
4	0·948	0·940	0·932	0·927	0·923
6	0·951	0·943	0·934	0·930	0·926
8	0·954	0·945	0·937	0·932	0·928
710	0·957	0·948	0·939	0·935	0·931
12	0·959	0·951	0·942	0·938	0·933
14	0·962	0·953	0·945	0·941	0·936
16	0·964	0·956	0·948	0·944	0·938
18	0·967	0·959	0·951	0·946	0·941
720	0·970	0·962	0 953	0·949	0·944
22	0·973	0·964	0·956	0·951	0·947
24	0·975	0·967	0·958	0·954	0·950
26	0·978	0·970	0·961	0·957	0·952
28	0·981	0·973	0·964	0·959	0·955
730	0·984	0·975	0·967	0·962	0·957
32	0·987	0·978	0·969	0·965	0·960
34	0·989	0·981	0·972	0·968	0·963
36	0·992	0·983	0·975	0·970	0·966
38	0·995	0·986	0·977	0·973	0·969
740	0·998	0·989	0·980	0·975	0·971
42	1·000	0·992	0·982	0·978	0·974
44	1·003	0·994	0·985	0·981	0·976
46	1·005	0·997	0·988	0·983	0·979
48	1·008	0·999	0·991	0·986	0·981
750	1·011	1·002	0·993	0·989	0·984
52	1·014	1·005	0·996	0·992	0·987
54	1·017	1·008	0·999	0·994	0·990
56	1·019	1·011	1·001	0·997	0·992
58	1·022	1·013	1·004	0·999	0·995
760	1·025	1·016	1·007	1·002	0·998
62	1·028	1·018	1·010	1·005	1·000
64	1·030	1·021	1·012	1·008	1·003
66	1·033	1·024	1·015	1·011	1·006
68	1·036	1·027	1·017	1·013	1·008
770	1·039	1·029	1·020	1·016	1·011

Harnstoffbestimmung.

Harnstoff im Liter. — Temperatur in Celsiusgraden.

17°	18°	19°	20°	21°	23°	25°
0·913	0·909	0·904	0·900	0·895	0·886	0·877
0·916	0·911	0·907	0·903	0·898	0·889	0·879
0·919	0·914	0·909	0·905	0·901	0·891	0·882
0·921	0·917	0·912	0·908	0·903	0·894	0·885
0·924	0·920	0·915	0·910	0·906	0·897	0·887
0·927	0·922	0·917	0·913	0·909	0·899	0·890
0·929	0·925	0 920	0·916	0·911	0·902	0·892
0·932	0·927	0·923	0·919	0·914	0·904	0·895
0·934	0·930	0·926	0·921	0·916	0·907	0·897
0·937	0·933	0·928	0·924	0·919	0·910	0·900
0·940	0·935	0·931	0·927	0·921	0·912	0·903
0·943	0·938	0·933	0·929	0·924	0·915	0·905
0·945	0·940	0·936	0·932	0·927	0·917	0·908
0·948	0·943	0·938	0·934	0·930	0·920	0·910
0·951	0·946	0·941	0·937	0·933	0·922	0·913
0·954	0·949	0·944	0·939	0·935	0·925	0·915
0·956	0·951	0·947	0·942	0 938	0·928	0·918
0·959	0·954	0·950	0·945	0·940	0·931	0·921
0·961	0·957	0·952	0·947	0·943	0·933	0·923
0·964	0·959	0·955	0·950	0·945	0·936	0·926
0·967	0·962	0·957	0·952	0·948	0·938	0·928
0·969	0·964	0·960	0·955	0·951	0·941	0·931
0·972	0·967	0·962	0·958	0 953	0·944	0·934
0·975	0·970	0·965	0·961	0·956	0·946	0·937
0·977	0·973	0·968	0·963	0·958	0·949	0·939
0·980	0·975	0·970	0·966	0·961	0·951	0·942
0·982	0·978	0·973	0·968	0·963	0·954	0·945
0·985	0·981	0·975	0·971	0·966	0·957	0·947
0·988	0·983	0·978	0·974	0·969	0·959	0·950
0·991	0·986	0·981	0·976	0·971	0·962	0·952
0·993	0·988	0·984	0·979	0·974	0·964	0·955
0·996	0·991	0·987	0·981	0 976	0·967	0·957
0·999	0·993	0·989	0·984	0·979	0·969	0·960
1·001	0·996	0·992	0·987	0·981	0·972	0·963
1·004	0·999	0·994	0·989	0·984	0·974	0·965
1·006	1·002	0·997	0·992	0·987	0·977	0·968

5. Harnsäurebestimmung.

a) Nach *Hopkins*. 100 cm^3 Harn werden mit 25 *g* Chlorammonium gesättigt und 24 Stunden stehen gelassen. Der entstandene Niederschlag von Ammonurat wird auf einem Filter gesammelt und mit einer 10%igen Ammonsulfatlösung chlorfrei ausgewaschen (d. h. bis das Filtrat nach Zusatz von Silbernitratlösung sich nicht mehr trübt). Dann spült man den Niederschlag mit heißem Wasser ohne Verlust in einen *Erlenmeyer*schen Kolben und läßt die Flüssigkeit erkalten. Jetzt setzt man 20 cm^3 konzentrierter Schwefelsäure zu und titriert die wiederum heiß gewordene Flüssigkeit sofort mit einer $^1/_{20}$-Normalpermanganatlösung. Die Permanganatlösung wird so lange zugesetzt, bis die entstehende Rosafärbung sich einige Sekunden hält. Jedem Kubikzentimeter der Permanganatlösung entspricht 0·00361 *g* Harnsäure.

Die Methode gibt ziemlich genaue und für die ärztliche Praxis brauchbare Resultate.

b) Nach *Salkowski-Ludwig*.

Prinzip. Die Harnsäure wird als Silbermagnesiumsalz ausgefällt und die aus dem Silberniederschlag freigemachte Harnsäure gewichtsanalytisch oder durch Bestimmung des N-Gehaltes nach *Kjeldahl* ermittelt.

Erforderliche Lösungen. 1. Ammoniakalische Silberlösung. Man löst 26 *g* Silbernitrat in einem Literkolben in Wasser, gibt Ammoniak hinzu, bis der entstehende Niederschlag wieder gelöst wird und füllt mit Wasser bis zur Marke auf.

2. Magnesiamischung. 100 *g* kristallisiertes Chlormagnesium löst man in einem Literkolben in der genügenden Menge Wasser, setzt Ammoniak zu, daß die Mischung stark danach riecht, und dann soviel kalt gesättigte Chlorammoniumlösung, bis der entstandene Niederschlag von Magnesiumhydrat wieder gelöst wird; man füllt endlich bis zur Marke auf.

3. Schwefelkalilösung. 15 *g* Kalihydrat oder 10 *g* Natriumhydrat werden in 1 *l* Wasser gelöst. Eine Hälfte der Lösung wird mit Schwefelwasserstoff gesättigt, dann mit der anderen Hälfte vereinigt.

Ausführung. 10 cm^3 Magnesiamischung und 10 cm^3 der Silberlösung werden in einem Becherglase gemischt und mit soviel Ammoniak versetzt, daß das ausgeschiedene Chlorsilber

sich wieder auflöst. Man gießt das Gemisch unter Umrühren zu 100 cm^3 Harn. Der sofort entstehende, Harnsäure enthaltende Niederschlag wird auf einem Filter gesammelt, wobei der an der Wand des Becherglases haftende Niederschlag nicht auf das Filter gebracht zu werden braucht. Das Filter mit dem Niederschlag bringt man jetzt in dasselbe Becherglas, in welchem die Fällung ausgeführt wurde, gießt 10 cm^3 der Schwefelkaliumlösung + 10 cm^3 Wasser zu und erhitzt bis zum Sieden (langes und starkes Erhitzen ist zu vermeiden, weil sich dabei die Harnsäure oxydieren kann). Man filtriert die heiße Flüssigkeit und wäscht mit heißem Wasser nach. Das Filtrat wird in einer Porzellanschale aufgefangen und das in demselben enthaltene Natriumurat durch Zusatz einer geringen Menge Salzsäure gespalten. Nach Eindampfen bis auf etwa 15 cm^3 und eventuellem Zusatz noch einiger Tropfen Salzsäure läßt man 12—24 Stunden stehen. Die ausgeschiedene freie Harnsäure wird auf einem kleinen, gewogenen Filter gesammelt, mit Wasser, Äther, Alkohol und Schwefelkohlenstoff gewaschen, getrocknet und gewogen.

Einfacher läßt sich die Menge der auskristallisierten Harnsäure durch die Bestimmung des N-Gehaltes nach *Kjeldahl* feststellen. Die auf dem Filter gesammelte Harnsäure wird dann nur mit einer geringen Menge Wasser ausgewaschen, dann das Filter mit dem Niederschlage in einen *Kjeldahl*-Kolben gebracht und weiter wie bei der Stickstoffbestimmung im Harn verfahren. Die ermittelte Stickstoffmenge wird mit 3 multipliziert. Diese Methode ist komplizierter und zeitraubender als die *Hopkins*sche, liefert aber dafür genaue und brauchbare Resultate.

6. Bestimmung der Chloride.

Nach *Mohr*. Prinzip. Versetzt man eine Chlornatriumlösung mit etwas Kaliumchromat, dann mit Silberlösung, so fällt nur Chlorsilber aus; erst wenn sämtliches Chlor an Silber gebunden ist, bildet sich bei weiterem Zusatz der Silberlösung Silberchromat, welches dem Niederschlag eine Orangefärbung erteilt.

Erforderliche Lösungen. 1. Silberlösung. Man erhält dieselbe durch Auflösung von 29·042 *g* reinen Argent. nitric. in einem Liter destillierten Wassers.

2. 10%ige Kaliumchromatlösung.

Ausführung. 10 cm^3 Harn werden in einem Kolben oder Becherglas mit 30—50 cm^3 destillierten Wassers verdünnt, dann mit einigen Tropfen Kaliumchromatlösung bis zur deutlichen Gelbfärbung versetzt. Man läßt aus der Bürette Silberlösung einfließen, bis bei starkem Umrühren die rötliche Färbung nicht mehr wie anfangs verschwindet. 1 cm^3 der Silberlösung entspricht 0·01 Chlornatrium.

Für klinisch-praktische Zwecke gibt die Methode genügend gute Resultate; genauere Resultate erhält man, wenn der Harn vorläufig verascht wird und die Chlorbestimmung nach derselben Methode mit der Asche ausgeführt wird.

7. Bestimmung der Phosphate.

Maßanalytische Methode.

Prinzip. Bringt man Phosphate in heißer essigsaurer Lösung mit einer Lösung von Urannitrat zusammen, so wird die Phosphorsäure vollständig als Uranphosphat ausgeschieden.

Erforderliche Lösungen. 1. Essigsaure Natriumazetatlösung. 100 g essigsaures Natron werden in 800 cm^3 Wasser gelöst, 100 cm^3 30%ige Essigsäure hinzugesetzt und zum Liter aufgefüllt.

2. Urannitratlösung. Diese Lösung enthält zirka 14 g Urannitrat auf 1 Liter Wasser und wird mittelst einer genau hergestellten Natriumphosphatlösung, welche 0·1 P_2O_5 in 50 cm^3 enthält, eingestellt. 1 cm^3 dieser Lösung entspricht 0·005 g P_2O_5.

3. Eine 10%ige Blutlaugensalzlösung (Ferrocyankali).

Ausführung. Man bringt 50 cm^3 Harn in einen *Erlenmeyer*-Kolben, gibt 5 cm^3 der essigsauren Natriumazetatlösung hinzu und erhitzt zum Sieden. Man läßt jetzt von der Urannitratlösung so lange zufließen, bis das Entstehen des Niederschlages noch deutlich sichtbar ist; dann prüft man nach Zusatz jedes $^1/_2$ cm^3 einen Tropfen der Flüssigkeit mit Ferrocyankalium, um zu bestimmen, ob die Endreaktion eingetreten ist. Man bringt zu diesem Zwecke auf eine Porzellanplatte eine Reihe Tropfen der Ferrocyankalilösung und läßt zu diesen Tropfen einen Tropfen der mit einem Glasstabe entnommenen Flüssigkeit zufließen. Entsteht an der Berührungsstelle beider Tropfen eine rötlichbraune Färbung, so ist die

Endreaktion eingetreten (Ferrocyankalium bildet mit Urannitrat-Uranferrocyanid, welches sich als rotbrauner Niederschlag ausscheidet). Multipliziert man die Zahl der verbrauchten Kubikzentimeter Uranlösung mit 0·005, so erhält man die Menge P_2O_5 in 50 cm^3 Harn. Anstatt Ferrocyankali kann man als Indikator Cochenilletinktur anwenden; man setzt der heißen Flüssigkeit 1—2 cm^3 der Tinktur zu und titriert mit Urannitrat bis zur grasgrünen Färbung der Flüssigkeit.

Der Harn muß eiweißfrei sein. Die Methode gibt gute Resultate.

8. Bestimmung der Sulfate.

Die Schwefelsäure kommt im Harne in zwei verschiedenen Formen vor, nämlich in Form der schwefelsauren Salze = präformierte oder Sulfatschwefelsäure und in Verbindung mit aromatischen Alkoholen, wie Phenol, Indoxyl, Brenzkatechin, als Ätherschwefelsäure oder gepaarte Schwefelsäure.

a) Bestimmung der präformierten Schwefelsäure.

Prinzip. Die Schwefelsäure wird in saurer Lösung durch Chlorbaryum ausgefällt und gewichtsanalytisch bestimmt.

Ausführung. 50—100 cm^3 des filtrierten Harns werden mit einem gleichen Volumen Wasser verdünnt, mit Essigsäure angesäuert, mit einer Chlorbaryumlösung im Überschuß versetzt und auf dem Wasserbade erwärmt, bis der Baryumsulfat-Niederschlag sich klar abgesetzt hat. Der Niederschlag wird alsdann auf einem aschefreien Filter gesammelt, mit heißem Wasser so lange gewaschen, bis das Filtrat vollkommen chlorfrei wird (keine Trübung nach Zusatz von Silbernitrat und Salpetersäure), und schließlich wird das Filter mit dem Niederschlag getrocknet, verascht und im Platintiegel geglüht. Nach dem Abkühlen wiegt man den Platintiegel nebst Glührückstand, zieht das Gewicht des Tiegels ab und multipliziert die Differenz mit 0·34331. Die erhaltene Zahl zeigt den Gehalt an SO_3 in der zur Bestimmung benutzten Harnmenge.

b) Bestimmung der gepaarten Schwefelsäure.

Das Filtrat von obiger Bestimmung wird mit Salzsäure stark angesäuert (Zusatz von 10 cm^3 HCl), einige Zeit zum Kochen erhitzt und, wenn nötig, einige Kubikzentimeter einer heißen Chlorbaryumlösung zugegeben. Durch Kochen mit Salzsäure werden die gepaarten Sulfate gespalten und die frei gewordene Schwefelsäure scheidet sich als Baryumsalz aus. Man sammelt den Niederschlag auf einem aschefreien Filter und verfährt weiter wie bei der Bestimmung der präformierten Schwefelsäure.

Addiert man die aus beiden Bestimmungen ermittelten Schwefelsäuremengen, so erhält man die Gesamtschwefelsäure. Sie beträgt beim normalen erwachsenen Menschen in der 24stündigen Harnmenge 1·5 bis 3 *g* SO_3.

9. Bestimmung der Oxalsäure nach Salkowski.

Prinzip. Die Oxalsäure wird aus dem salzsäurehaltigen Harn mit Alkoholäther extrahiert; nach Abdestillieren des Alkoholäthers wird die Oxalsäure als Kalziumsalz ausgefällt und gewichtsanalytisch bestimmt.

Ausführung. Man dampft 500 cm^3 unfiltrierten Harns auf dem Wasserbade auf etwa 150 cm^3 ein, versetzt nach dem Erkalten mit 20 cm^3 konzentrierter Salzsäure und bringt das Gemisch in einen etwa 500 cm^3 fassenden Scheidetrichter. Man schüttelt jetzt 3mal mit einem gleichen Volumen alkoholhaltigen Äthers (9 Teile Äther, 1 Teil Alkohol absol.) aus und sammelt die Ätherauszüge in einem Kolben. Die Ätherauszüge werden alsdann durch ein trockenes Filter in einen trockenen Destillierkolben abfiltriert und der Äther abdestilliert. Die im Kolben bleibende Flüssigkeit gießt man in eine Porzellanschale um und spült den Kolben zuerst mit Alkohol, dann mit Wasser in die Schale ab. Die Schale wird auf dem Wasserbade so lange (unter Zusatz von etwas Wasser) erhitzt, bis der Geruch nach Alkohol und Äther verschwunden ist. Die nachbleibende wässerige Flüssigkeit (ihr Volumen soll zirka 20 cm^3 betragen) scheidet nach dem Erkalten harzige Substanzen ab. Man filtriert die Flüssigkeit von denselben ab, macht das Filtrat mit Ammoniak schwach alkalisch, setzt

1—2 cm^3 einer 10%igen Chlorkalziumlösung hinzu und säuert mit Essigsäure an. Man läßt hierauf die Flüssigkeit an einem warmen Orte längere Zeit (12—24 Stunden) stehen, bis sich der aus oxalsaurem Kalk bestehende Niederschlag am Boden des Gefäßes angesammelt hat. Man bringt hierauf den Niederschlag ohne Verlust auf ein aschefreies Filter, wäscht mit Wasser aus, trocknet, glüht heftig (zur Überführung des oxalsauren Kalks in Ätzkalk) und wägt. Multipliziert man das Gewicht des erhaltenen Ätzkalks (CaO) mit $^5/_8$, so erhält man die Quantität der Oxalsäure. Wenn die Bestimmung richtig ausgeführt ist, so darf der Ätzkalk beim Auflösen in verdünnter Salzsäure keine Kohlensäure entwickeln; auch die Prüfung der Lösung auf Phosphorsäure mit Ammoniummolybdat muß negativ ausfallen. Die Methode liefert genaue Resultate. Der normale Harn enthält in der 24stündigen Menge nicht mehr als 0·02 *g* Oxalsäure.

VI. Untersuchung der Harnsteine und Harnkonkremente.

Nach dem wesentlichen Bestandteil unterscheidet man:

1. Uratsteine, welche aus freier Harnsäure, saurem harnsaurem Natron oder (seltener) aus harnsaurem Ammoniak bestehen.
2. Phosphatsteine bestehen hauptsächlich aus phosphorsauren Salzen des Kalks, Magnesia und kohlensaurem Kalk.
3. Oxalatsteine aus oxalsaurem Kalk.
4. Cystin- und Xanthinsteine (sehr seltene Konkretionen).
5. Gemischte Steine bestehen aus Schichten verschiedener Zusammensetzung.

Allgemeine Eigenschaften.

Farbe. Uratsteine sind gelb bis dunkelbraunrot gefärbt, Phosphatsteine von weißer, grauer bis graugelblicher Farbe, Oxalatsteine sind meist braunrot bis schwarz gefärbt, es finden sich aber auch solche von weißer oder grauer Farbe (kleinere Steine). Cystinsteine sind blaßgelb, Xanthinsteine hellbraun.

Oberfläche. Oxalatsteine haben eine rauhe, bucklige oder warzige Oberfläche (maulbeerartig); Uratsteine haben eine weniger rauhe, Phosphatsteine meist eine sandige, ziemlich glatte Oberfläche. Cystin und Xanthinsteine sind meist glatt.

Konsistenz. Die weichsten sind die Cystin- und Phosphatsteine. Letztere sind von einer mehr oder weniger erdigen, kreidigen Beschaffenheit und ziemlich brüchig. Cystinsteine sind wachsweich, Uratsteine sind viel härter, die härtesten sind die Oxalatsteine.

Chemische Untersuchung.

Für die Untersuchung wird der Stein mit einer Laubsäge in zwei gleiche Teile zersägt, die Oberfläche des Querschnittes etwas abgeschliffen und mit Wasser abgespült. Es treten dann die Schichten, aus welchen der Stein zusammengesetzt ist, und der Kern deutlich hervor. Zur chemischen Untersuchung schabt man von jeder Schicht und dem Kern mit dem Messer etwas ab und untersucht jede Schicht gesondert. Sind auf dem Querschnitte die Schichten und der Kern nicht deutlich, so zerschlägt man den Stein und zerreibt einen Teil im Mörser zu feinem Pulver.

Eine kleine Probe des Pulvers erhitzt man auf einem Platinblech oder Platinspatel. Diese vorläufige Probe bestimmt den weiteren Gang der chemischen Untersuchung, da dabei das Vorwiegen organischer oder anorganischer Substanzen im zu prüfenden Steine festgestellt wird. Es können hierbei zwei Fälle vorkommen:

1. Die Probe verbrennt fast ganz und es bleibt kein oder nur ein sehr geringer Rückstand, d. h. der Stein besteht hauptsächlich aus organischen Substanzen. Solche Steine können aus Harnsäure, harnsauren Salzen, Xanthin oder Cystin bestehen. Urat und Xanthinsteine verbrennen ohne Flamme mit einem Geruch nach Blausäure, Cystinsteine mit bläulicher Flamme und Geruch nach schwefliger Säure.

Um mit Sicherheit festzustellen, welche von den genannten organischen Substanzen die Hauptmasse des Steines bildet, dampft man eine zweite Probe in einer Porzellanschale mit einigen Tropfen Salpetersäure zur Trockne ein. Gibt der

Rückstand mit einem Tropfen Ammoniak eine purpurrote und mit Natronlauge eine blauviolette Färbung (Murexidprobe), so handelt es sich um Harnsäure, harnsaures Ammon oder andere Urate. Wenn die ursprüngliche Substanz mit Kalilauge Ammoniak entwickelt, so besteht der Stein aus harnsaurem Ammon, fällt die Probe auf Ammoniak negativ aus und verbrennt der Stein beim Glühen vollkommen, so handelt es sich um reine Harnsäure. Andere harnsaure Salze hinterlassen beim Glühen einen geringen Rückstand.

Erhält man bei der Murexidprobe mit Ammoniak keine Färbung und mit Natronlauge eine schön rote Farbe, so besteht der Stein aus Xanthin. Cystinsteine geben bei der Murexidprobe weder mit Ammoniak noch mit Natronlauge eine Färbung. Sie unterscheiden sich dadurch, daß sie leicht in Ammoniak löslich sind, wobei nach langsamem Verdunsten des Ammoniaks sich sehr charakteristische sechsseitige Tafeln abscheiden.

2. Die Probe verbrennt gar nicht oder schwärzt sich nur und hinterläßt nach dem Glühen einen bedeutenden Rückstand. Der Stein kann in diesem Falle hauptsächlich aus Phosphaten, Karbonaten oder Oxalaten bestehen.

Man löst eine Probe bei gelindem Erwärmen in verdünnter Salzsäure, wobei der größte Teil des Pulvers gelöst wird. Ungelöst bleibt nur die organische Grundsubstanz und die eventuell in geringer Menge vorhandene Harnsäure. Man läßt die Probe erkalten (zur Abscheidung der Harnsäure), filtriert, verdünnt das Filtrat mit Wasser und versetzt mit Ammoniak bis zur stark alkalischen Reaktion. Entsteht bei Zusatz von Ammoniak ein Niederschlag, so kann derselbe aus

a) Erdphosphaten (phosphorsaurer Kalk und Magnesia), Tripelphosphat (phosphorsaure Ammoniak-Magnesia)

oder

b) oxalsaurem Kalk bestehen.

Man trennt den Niederschlag von der Flüssigkeit (am besten durch Zentrifugieren) und löst denselben in Essigsäure. Tripelphosphate und Erdphosphate werden dabei gelöst, während oxalsaurer Kalk ungelöst bleibt und mikroskopisch nachgewiesen werden kann.

Mit der abfiltrierten essigsauren Lösung führt man folgende Probe aus: Man versetzt die Flüssigkeit mit Ammoniummolybdat und Salpetersäure und erwärmt auf 60°; entsteht ein gelber Niederschlag, so ist die Anwesenheit von Phosphorsäure bestätigt.

Entsteht bei Zusatz von Ammoniak zu der salzsauren Lösung des Steines kein Niederschlag, so handelt es sich um Kalzium- oder Magnesiumkarbonat.

Eine Probe des Steines wird alsdann mit Salzsäure betupft: es muß dabei eine Gasentwicklung (Aufbrausen) durch Ausscheidung von Kohlensäure entstehen. Man versetzt jetzt eine Hälfte der ammoniakalischen Flüssigkeit mit oxalsaurem Ammon; bildet sich dabei ein Niederschlag von oxalsaurem Kalk, so ist Kalziumkarbonat vorhanden. Zu der anderen Hälfte setzt man eine Natriumphosphatlösung zu; wenn dabei ein Niederschlag von Tripelphosphat entsteht, so ist Magnesiumkarbonat nachgewiesen.

Der in Salzsäure unlösliche Rest des Steines muß auf Harnsäure mittelst der Murexidprobe geprüft werden.

VII. Mikroskopische Untersuchung des Harnsediments.

Zur Gewinnung des Harnsediments zur mikroskopischen Untersuchung stehen 3 Methoden zur Verfügung:

1. Die Sedimentierung im Spitzglase. Läßt man den Harn längere Zeit in einem Spitzglase ruhig stehen, so sinken die festen, ungelösten Bestandteile allmählich zu Boden und sammeln sich als Niederschlag in dem unteren, zugespitzten Ende des Glases an. Nachdem die über dem Sediment stehende Flüssigkeit möglichst vollständig dekantiert ist, wird ein Tropfen desselben mittelst Pipette zur Untersuchung entnommen.

2. Sammlung des Niederschlages auf einem Filter. Man läßt eine möglichst große Menge des zu untersuchenden Urins durch ein angefeuchtetes Filter gehen, wobei die Formelemente auf demselben zurückgehalten werden.

3. Ausschleudern der Formelemente durch Zentrifugieren des Harns. Ein kleines, nach unten sich verjüngendes Gläschen wird mit der Harnprobe gefüllt*, in den Behälter einer Zentrifuge gestellt und einige Minuten zentrifugiert. Alsdann sammeln sich die ungelösten Bestandteile im untern spitzen Ende des Zentrifugeröhrchens an. Die darüber stehende Flüssigkeit wird unter möglichst schnellem Umdrehen des Gläschens abgegossen. Allmähliches Ausgießen ist zu vermeiden, weil sich dabei das Sediment wieder leicht mit der Flüssigkeit vermischt.

Die Vorteile des Zentrifugierens sind leicht ersichtlich. Beim Sedimentieren im Spitzglase liefern Harne, welche nur wenige Formelemente enthalten, kaum einen Niederschlag, während die Zentrifuge noch ein leicht zu verarbeitendes Sediment ergibt. Ferner braucht man bei Benutzung der letzteren den Harn nicht stundenlang stehen zu lassen, wodurch leicht Zersetzungen und damit Veränderungen der im Harn enthaltenen Formelemente eintreten können.

Von dem Sediment wird mit einer Pipette ein kleiner Tropfen entnommen, auf einen Objektträger gebracht und, ohne dabei einen besonderen Druck auszuüben, mit einem Deckglase bedeckt. Die etwa unter dem Deckglase hervordringende Flüssigkeit darf nicht durch Absaugen mittelst Fließpapier entfernt werden, weil dadurch leicht Formelemente aus dem Bereiche des Deckglases fortgeschwemmt werden können. Die mikroskopische Untersuchung wird alsdann bei 300—400facher Vergrößerung vorgenommen. Wie immer bei ungefärbten Objekten, bedient man sich auch hier des Hohlspiegels und schaltet den *Abbé*schen Beleuchtungsapparat aus.

Sehr häufig bedarf es zur Identifizierung amorpher und kristallinischer Salze der Anwendung einer mikrochemischen Reaktion. Dieselbe wird in der Weise ausgeführt, daß man an den einen Rand des Deckglases einen Tropfen des betreffenden Reagens bringt und dasselbe durch ein Stückchen

* Es empfiehlt sich, den Harn vor der Entnahme des Untersuchungsmaterials 1—2 Stunden stehen zu lassen und dann erst das abgesetzte Sediment mit einer langen Pipette zu entnehmen und zu zentrifugieren.

Fließpapier, das man an die entgegengesetzte Kante des Deckglases anlegt, ansaugt.

Mikroskopische Untersuchung.

Das Harnsediment setzt sich aus nicht organisierten und organisierten Formelementen zusammen.

Die nicht organisierten Formelemente umfassen die aus dem Harn ausfallenden Salze, welche entweder in amorpher oder kristallinischer Gestalt im Sediment erscheinen.

Von einer Einteilung der Salze nach der Reaktion des Urins, bei welcher sie im Sediment gefunden zu werden pflegen, soll Abstand genommen werden, weil die meisten sowohl im Niederschlag des sauren und amphoteren als auch des alkalischen Harns angetroffen werden können. Die Harnsäure z. B. findet sich vornehmlich bei saurer, phosphorsaure Ammoniak-Magnesia besonders bei alkalischer Reaktion des Urins; trotzdem können beide zusammen bei alkalischer Reaktion auftreten, wenn im Beginne der alkalischen Gärung die Harnsäurekristalle noch nicht vollkommen aufgelöst sind, während Tripelphosphate bereits ausfallen. Es soll bei der Schilderung der einzelnen Salze bemerkt werden, bei welcher Reaktion sie vorzukommen pflegen.

Harnsäure (Fig. 34). Die Harnsäurekristalle finden sich hauptsächlich im Niederschlage des sauren Harns, seltener im amphoteren und nur unter besonderen Verhältnissen im alkalischen Urin. Sie treten bald vereinzelt auf, bald fallen sie in großer Menge aus und haften dann oft fest am Boden und den Wänden des Harngefäßes, meist schon makroskopisch an ihrem kristallinischen Aussehen und ihrer gelben oder rotbraunen Farbe erkennbar.

Auch im mikroskopischen Präparate erscheinen die Harnsäurekristalle fast stets braun oder gelb gefärbt, nur selten sieht man sie farblos. In Form und Größe bieten sie ein recht vielgestaltiges Bild dar. Bald treten sie in Gestalt von Wetzsteinen auf, bald in Form von Spindeln, die, sich aneinander lagernd und kreuzend, Drusen und Rosetten darstellen, bald bilden sie 6seitige Tafeln oder zeigen Tonnen- oder Faßform. Daneben finden sich spieß- und nadelförmige Gebilde, welche garbenbündelartig oder zu Büscheln angeordnet sind. Seltener sieht man Hantel- und Sanduhrformen.

Alle diese mannigfachen Kristallformen, welche nicht selten nebeneinander vorkommen, lassen sich im wesentlichen auf eine gemeinsame Grundform, die rhombische Tafel, zurückführen. Runden sich zwei gegenüber liegende Winkel der Tafel ab, so entwickelt sich die Wetzsteinform; sind dieselben durch senkrechte Linien abgeschnitten, erhält man die 6seitige Tafel; durch spitzwinklige Ausziehung der Ecken entstehen die nadelförmigen beziehungsweise spießartigen Gebilde; Überschichtung und Aneinanderlagerung von Kristallen führt zur Bildung der Tonnen- und Faßform.

Die Harnsäurekristalle sind meist ohne weiteres an ihrer Farbe, welche sie den beim Ausfallen mitgerissenen Harnfarbstoffen verdanken, erkennbar. Die farblosen 4—6seitigen Tafeln, zu welchen die Harnsäure kristallisieren kann, erinnern an Cystinkristalle, von denen sie jedoch durch ihr chemisches Verhalten zu unterscheiden sind.

Mikrochemische Reaktionen: 1. Die Harnsäure gibt die Murexidprobe (cf. Seite 174). 2. Läßt man unter dem Deckglase etwas Natronlauge zufließen, so lösen sich die Harnsäurekristalle auf, um nach Zusatz von HCl wieder auszufallen.

Amorphe harnsaure Salze, Urate (Fig. 35). Dieselben setzen sich aus saurem harnsaurem Natrium, Kalium, Kalzium und Magnesium zusammen und sind ein Sediment des sauren Harnes. Makroskopisch erscheinen sie als lehmfarbener, gelber oder ziegelroter Niederschlag, der sich aus konzentrierten sauren Harnen und beim Erkalten des Urins oft in großen Massen niederschlägt (Sedimentum lateritium). Seine Färbung verdankt dieses Sediment dem normalen Farbstoff des Harns, welchen die Urate gleich der Harnsäure beim Ausfallen mitreißen.

Unter dem Mikroskope zeigen sie sich als kleine, amorphe, bräunlichgelb gefärbte, seltener farblose Körnchen, die gewöhnlich in kleineren oder größeren moosartigen Häufchen zusammenliegen und oft in so dichten Massen auftreten, daß sie das ganze Gesichtsfeld vollkommen ausfüllen und alle anderen Formelemente verdecken. Um diese sichtbar zu machen, muß man dann die Urate erst zur Auflösung bringen. Dies geschieht am einfachsten, indem man das Zentrifugierröhrchen,

welches das Sediment enthält, mit lauwarmer physiologischer Kochsalzlösung füllt, die Urate unter Schütteln auflöst und sofort, ehe sie beim Erkalten der Mischung wieder ausfallen können, von neuem zentrifugiert. Mitunter bilden die Urate eigentümliche zylindrische Formen, Uratzylinder, welche nicht mit granulierten Zylindern verwechselt werden dürfen;

Fig. 35.

a Uratzylinder, *b* neutraler phosphorsaurer Kalk.

nicht selten sieht man sie auf Epithelien und echten Zylindern aufgelagert.

Mikrochemische Reaktionen:

1. Die Urate lösen sich beim Erwärmen auf und scheiden sich beim Erkalten wieder aus.

2. Sie lösen sich auf Zusatz von Salzsäure und Essigsäure auf, aus der Lösung fallen nach einiger Zeit Harnsäurekristalle meist in Form rhombischer Tafeln aus.

3. Die Murexidprobe ist positiv.

Saures, harnsaures Ammon (Ammoniumurat) (Fig. 36). Das Ammoniumurat ist das einzige harnsaure Salz, welches im Sediment des alkalischen Harns angetroffen wird. Im neutralen und sauren Urin begegnet man ihm ziemlich häufig bei Kindern, besonders Neugebornen und Säuglingen, sehr viel seltener bei Erwachsenen.

Die makroskopische Betrachtung eines Sediments läßt das Vorhandensein von harnsaurem Ammon nicht vermuten. Sehr charakteristisch sind dagegen die Formen, in denen dasselbe im mikroskopischen Bilde zu Gesicht kommt. Meist erscheint es in Gestalt braungelb gefärbter Kugeln, welche einzeln, paarweise oder auch zu größeren Haufen vereint liegen können. Diese Kugeln zeigen häufig Stacheln ähnliche Fortsätze, welche je nach Größe und Anzahl den Kristallen ein mannigfaches Aussehen verleihen. So entstehen Kristalle von Stechapfel-, Morgenstern-, Milben- und Rübenform. Allen diesen Bildungen gemeinsam ist die braungelbe Farbe. Nur selten bildet das harnsaure Ammon farblose Kristalle. Dieselben erscheinen dann als biskuitförmige Gebilde (Dumb bells) oder büschelförmig angeordnete Nadeln. Das gleichzeitige Auftreten der typischen braunen Kugeln sowie die mikrochemische Reaktion lassen auch diese selteneren Kristallformen leicht erkennen.

Mikrochemische Reaktionen: 1. Die Kristalle des harnsauren Ammons lösen sich bei dem Erwärmen auf und fallen beim Erkalten wieder aus.

2. Auf Zusatz von Essigsäure gehen sie in Lösung und an ihrer Stelle bilden sich Harnsäurekristalle.

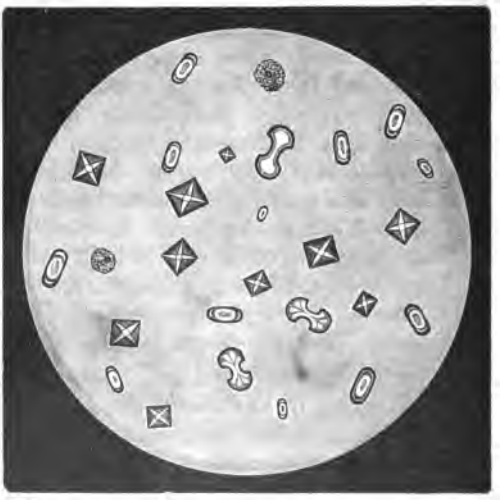
3. Kalilauge löst sie unter Gasentwicklung (Ammoniak) auf.

4. Wie alle harnsauren Salze gibt das harnsaure Ammon die Murexidprobe.

Kalziumoxalat, oxalsaurer Kalk (Fig. 37). Die Kristalle des oxalsauren Kalks finden sich im Sediment des sauren, amphoteren und schwach alkalischen Harns. Dieselben bilden, wenn sie in großen Mengen ausfallen, einen grauweißen, flockigen Bodensatz.

Die Kristalle des oxalsauren Kalks erscheinen gewöhnlich als farblose, stark lichtbrechende Oktaeder, sog. Briefkuvertformen, von verschiedener Größe. Man begegnet, besonders wenn Kalziumoxalat in großer Menge ausgefallen ist, ganz kleinen Kristallen, deren Briefkuvertform oft nur bei scharfer Einstellung des Mikroskops erkennbar ist. Selbst die kleinsten punktförmigen Kristalle fallen jedoch durch ihr charakteristi-

Fig. 37.



Kalziumoxalat.

sches glänzendes Aussehen auf, das mitunter an kleine Fetttröpfchen erinnert, von welchen sie sich durch die mikrochemische Reaktion (bei Zusatz von Äther löst Fett sich auf) unterscheiden.

Seltener als in Oktaedern kristallisiert der oxalsaure Kalk in Sanduhr-, Hantel- oder Biskuitform (sog. Dumb bells). Das starke Lichtbrechungsvermögen dieser Gebilde, deren Oberfläche leicht gestreift erscheint, das gleichzeitige Vorhanden-

sein von Briefkuvertformen, schließlich ihr Verhalten chemischen Reagenzien gegenüber, lassen auch sie immer leicht als Kristalle des oxalsauren Kalks erkennen. Im ikterischen Harn sind dieselben ebenso wie andere Formelemente (Epithelien, Zylinder etc.) oft gelb gefärbt.

Die Kalziumoxalatkristalle sind chemisch durch ihre Unlöslichkeit beim Erwärmen und in Essigsäure und ihre

Fig. 38.

a Kristalle des neutralen phosphorsauren Kalkes, *b* amorphe Phosphate und Karbonate.

leichte Löslichkeit in Salzsäure charakterisiert. Setzt man der Auflösung in HCl Ammoniak oder Kalilauge hinzu, so kristallisiert der oxalsaure Kalk wieder in Oktaedern aus.

Neutraler, phosphorsaurer Kalk (Dikalziumphosphat) (Fig. 38). Derselbe findet sich sowohl im Sediment des schwach sauren, wie amphoteren und schwach alkalischen Harns.

Der neutrale phosphorsaure Kalk kristallisiert meist zu langen, glänzenden, prismatischen, keilförmigen Gebilden, die einzeln liegend angetroffen werden, meist aber zu mehr oder weniger dichten Bündeln oder Rosetten angeordnet sind; das keilförmig zugespitzte Ende ist dann gewöhnlich dem Zentrum zugekehrt. Daneben bildet das Dikalziumphosphat auch tafelförmige Kristalle, in seltenen Fällen büschelförmig angeordnete Nadeln, welche in ihrem Aussehen den Tyrosinkristallen gleichen, jedoch durch die mikrochemische Reaktion von ihnen zu unterscheiden sind. Die Kristalle des neutralen

Fig. 39.

Schwefelsaurer Kalk.

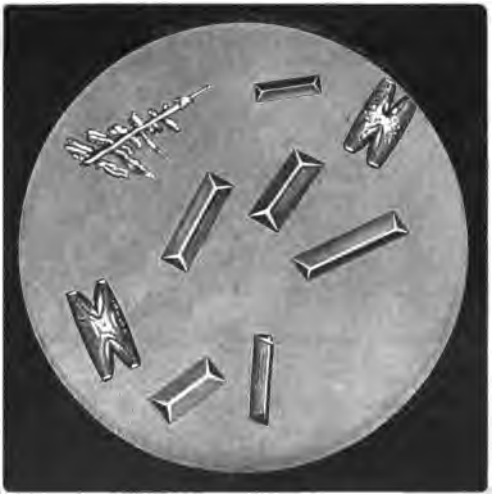
phosphorsauren Kalks lösen sich bei der Behandlung mit Essigsäure vollkommen auf.

Kalziumsulfat, Gips (Fig. 39). Die Kristalle des schwefelsaurem Kalks sind äußerst selten im Sediment des Urins nachweisbar; sie finden sich nur in stark sauren Harnen, in welchen sie dann oft einen weißen, dichten Niederschlag bilden.

Bei der mikroskopischen Betrachtung erscheinen sie in Form farbloser, langer Nadeln, oder als schmale Prismen mit schrägen Endflächen, meist in Rosettenform angeordnet. Vor einer Verwechslung mit den sehr ähnlichen Kristallen des neutralen phosphorsauren Kalks schützt die mikrochemische Reaktion. Die Gipskristalle sind in Essigsäure unlöslich, in Salzsäure schwer löslich.

Kalziumkarbonat (kohlensaurer Kalk) (cf. Fig. 38). Der kohlensaure Kalk findet sich am häufigsten im Bodensatz des alkalischen, sehr viel seltener im Niederschlag des amphoteren und schwach sauren Harns. Er kommt gewöhnlich zusammen mit amorphen Phosphaten vor, von denen er makroskopisch nicht zu unterscheiden ist. Bei der mikroskopischen Betrachtung zeigt er sich in Form grauweißer, kleiner Körner oder Kugeln, die oft hantelförmig aneinander gelagert

Fig. 40.



Tripelphosphate (phosphorsaure Ammoniak-Magnesia).

sind. Überaus charakteristisch ist sein mikrochemisches Verhalten. Auf Zusatz einer verdünnten Mineralsäure lösen sich die Karbonate unter Entwicklung von CO_2 auf; unter dem Mikroskop erscheint dann das ganze Gesichtsfeld mit kleinen Luftblasen bedeckt.

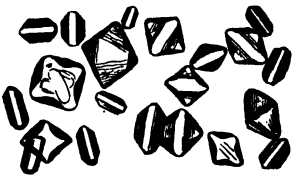
Amorphe Erdphosphate (phosphorsaurer Kalk und phosphorsaure Magnesia) (cf. Fig. 38). Dieselben fallen am häufigsten aus alkalisch reagierendem Harn aus,

können sich jedoch auch im Sediment des amphoteren und schwach sauren Urins finden. Sie bilden einen feinflockigen, grauweißen, leicht beweglichen Niederschlag.

Mikroskopisch erscheinen sie als feinkörnige, ungefärbte Masse, die sich von anderen ähnlich aussehenden amorphen Sedimenten durch die mikrochemische Reaktion leicht unterscheiden läßt. Die Erdphosphate lösen sich nach Zusatz von Essigsäure ohne Gasentwicklung auf, bleiben aber beim Erwärmen ungelöst.

Phosphorsaure Ammoniak-Magnesia (Tripelphosphate) (Fig. 40) finden sich hauptsächlich im Niederschlag des alkalischen Urins, sehr häufig zusammen mit amorphen Phosphaten und Karbonaten, sowie im Eitersediment alkalisch

Fig. 41.



Kristalle aus basisch-phosphorsaurer Magnesia.

reagierender Harne. Man begegnet ihnen jedoch auch nicht allzu selten im amphoteren und schwach sauren Harn beim Beginn der alkalischen Gärung.

Tripelphosphate bilden rhombische, wasserhelle Prismen von sehr charakteristischem Aussehen. Meist präsentieren sie sich in Sargdeckelform, seltener zeigen sie sich als federkiel- oder farrenkrautähnliche Gebilde. Durch Kombination dieser beiden Formen entstehen mitunter recht grotesk aussehende Kristalle, welche jedoch durch die mikrochemische Reaktion, ihre leichte Löslichkeit auf Zusatz von Essigsäure, als Tripelphosphate identifiziert werden können. Diese charakteristische Reaktion schützt auch vor Verwechslung der Tripelphosphate mit den ihnen mitunter sehr ähnlich sehenden großen Briefkuvertformen des oxalsauren Kalks.

Phosphorsaure Magnesiakristalle (Fig. 41) finden sich in überaus seltenen Fällen im alkalischen Harn in Form glänzender, länglich-rhombischer Tafeln, welche in Essigsäure leicht löslich sind. Außer im Sediment sieht man dieselben auch in dem Häutchen, welches die Oberfläche alkalischer Harne häufig bedeckt.

Leucin und Tyrosin (Fig. 42), welche gewöhnlich zusammen angetroffen werden, kommen im Gegensatz zu den bisher geschilderten Kristallformen im normalen Urin nicht vor. Ihr Auftreten ist bei akuter gelber Leberatrophie, Phosphorvergiftungen, seltener bei Infektionskrankheiten, wie Typhus und Variola und bei schweren Bluterkrankungen beobachtet.

Fig. 42.

a Tyrosin, *b* Cystin, *c* Leucin.

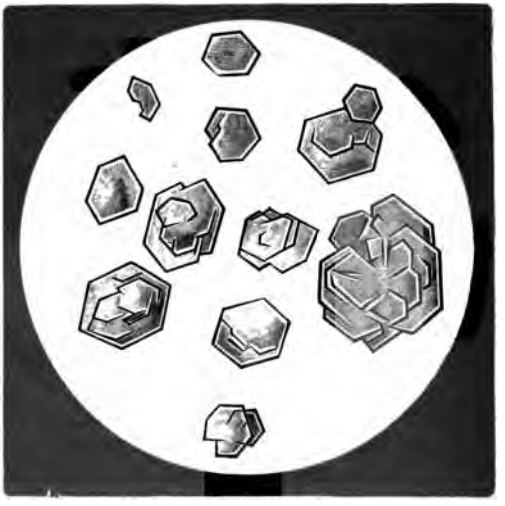
Der Nachweis von Leucinkristallen gelingt meist erst nach Eindampfen des Urins und Ausfällen mit Alkohol. Nur in den Fällen, in welchen sich Leucin in größerer Menge gelöst findet, kristallisiert es bereits aus, wenn man einen Tropfen Harn auf dem Objektträger langsam verdunsten läßt. Tyrosin ist schwerer löslich als Leucin und gewöhnlich auch reichlicher im Urin enthalten. Es fällt infolgedessen oft schon, nachdem der Harn einige Zeit gestanden hat, spontan aus.

Die Tyrosinkristalle, welche ebenso wie die des Leucins meist grünlichgelb gefärbt sind, bilden aus feinsten Nadeln zusammengesetzte Büschel, die Leucinkristalle Kugeln, die meist gleichzeitig eine radiäre und konzentrische Streifung erkennen lassen. Auf den größeren Kugeln sieht man öfters kleinere buckelförmig aufgesetzt.

Mikrochemische Reaktionen: Leucin ist löslich in Säuren und Alkalien, unlöslich in Alkohol und Äther. Die Kristalle des harnsauren Ammons, mit welchen die Leucinkristalle verwechselt werden können, unterscheiden sich von ihnen durch das Auftreten von Harnsäurekristallen nach der Auflösung in Essigsäure.

Tyrosin ist unlöslich in Essigsäure, Alkohol und Äther, löslich in verdünnten Mineralsäuren, Alkalien und Ammoniak.

Fig. 43.



Cystinkristalle.

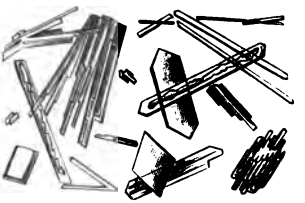
Cystin (Fig. 43) ist gleichfalls unter normalen Verhältnissen im Harn nicht nachweisbar. Es findet sich im Sediment in den seltenen Fällen von Cystinurie, in denen aus bisher nicht vollkommen aufgeklärter Ursache Ausscheidung von Cystin durch den Harn stattfindet. Cystin kristallisiert in charakteristischen farblosen, sechsseitigen Tafeln, die häufig übereinander geschichtet sind.

Cystin ist im Gegensatz zur Harnsäure in Salzsäure und Ammoniak löslich; es ist unlöslich in Essigsäure. Setzt man

zur ammoniakalischen Lösung Essigsäure hinzu, oder läßt man Ammoniak langsam verdunsten, so fallen die Cystinkristalle wieder in Form sechsseitiger Tafeln aus.

Hippursäure (Fig. 44). Hippursäurekristalle zeigen sich sehr selten im Sediment des Harns. Die Hippursäure

Fig. 44.

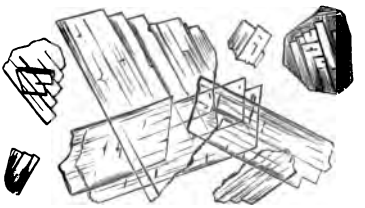


Hippursäurekristalle.

kristallisiert in farblosen Nadeln und rhombischen Prismen, die sternförmig angeordnet sein können. Sie ist in Essigsäure unlöslich.

Cholesterin (Fig. 44 *a*) erscheint ebenfalls sehr selten im Niederschlag des Harns. Die Cholesterinkristalle präsen-

Fig. 44 *a*.



Cholesterin.

tieren sich als farblose Tafeln, die nicht selten übereinander geschichtet liegen und winklig einspringende Ecken zeigen. Mikrochemische Reaktion cf. Seite 77.

Xanthin ist, trotzdem es normalerweise im Harn vorkommt, bisher nur in ganz vereinzelten Fällen im Sediment

gefunden worden. Es bildet wetzsteinförmige Kristalle, die zum Unterschied von Harnsäure in verdünntem Ammoniak und beim Erhitzen löslich sind.

Von dem im Harne vorkommenden Farbstoffen können Gallen- und Blutfarbstoff sowie Indigo mitunter zur Bildung von amorphen und kristallinischen Niederschlägen führen.

Bilirubin. Beim Icterus neonatorum und Icterus gravis Erwachsener kann, besonders wenn der Harn stark sauer ist, Gallenfarbstoff in Form orangefarbener, amorpher Körnchen oder gelber Kristalle in Gestalt von Nadeln und rhombischen Tafeln ausfallen. Man findet die Körnchen und Kristalle oft in Epithelien, Leukozyten oder Fettröpfchen eingelagert.

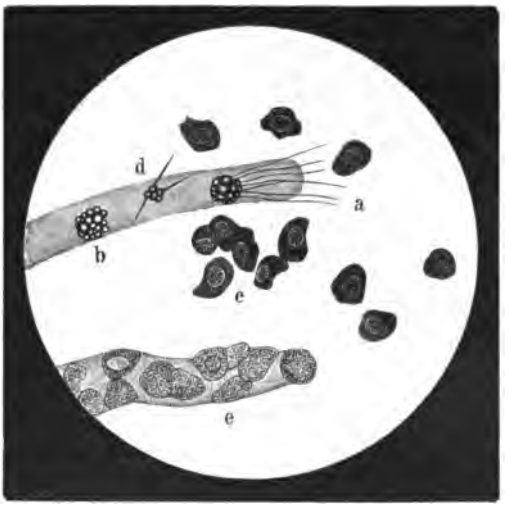
Hämoglobin (Fig. 45). Bei Blutungen aus den Nieren- und Harnwegen sowie bei Hämoglobinurie kommt es nicht selten zur Abscheidung von Blutpigment in Form rot- bis braungelber Körnchen und Schollen. Besonders in schweren Fällen von Hämoglobinurie kann Blutfarbstoff in großer Menge ausfallen und ist dann oft zu zylindrischen Gebilden angeordnet (Pigmentzylinder). Seltener zeigt sich der Blutfarbstoff in Gestalt sogenannter Hämatoidinkristalle. Dieselben gleichen in Farbe und Aussehen den eben beschriebenen Bilirubinkristallen, mit denen sie vielfach für identisch gehalten werden.

Indigo (Fig. 46). Bei alkalischer Zersetzung indikanreicher Harne kommt es mitunter durch Oxydation des Indikans zur Bildung von Indigoblau. Die blauen, schon makroskopisch durch ihre Farbe auffallenden Kristalle erscheinen als kleine rhombische Tafeln oder büschelförmig gruppierte Nadeln, die in Chloroform mit blauer Farbe löslich sind.

Fett- und Fettsäurenadeln (cf. Fig. 47). Beim Vorkommen von Fett im Urin ist stets zu berücksichtigen, daß es sich um eine zufällige Verunreinigung durch eingefettete Katheter, Suppositorien, fetthaltige Gefäße etc. handeln kann. Unter pathologischen Verhältnissen wird Fett in größeren, bereits makroskopisch erkennbaren Mengen nur in den seltenen Fällen von Lipurie und Chylurie im Harn angetroffen.

Unter dem Mikroskop erscheint das Fett in Form stark lichtbrechender Tröpfchen und Körnchen mit scharfen, dunklen Konturen, entweder frei in der Flüssigkeit schwimmend oder anderen Formelementen, wie z. B. Zylindern, aufgelagert oder als Produkt der fettigen Degeneration des Protoplasmas innerhalb der Zellen liegend. Nicht selten sind die letzteren so dicht mit Fettkugeln angefüllt, daß auch der Kern voll-

Fig. 47.



a Fettsäurenadeln, *b* fettig degenerierte Nierenepithelien (Fettkörnchenzellen), *c* Nierenepithelien, *d* hyaliner Zylinder, *e* mit Nierenepithelien besetzter Zylinder.

kommen unsichtbar wird und die Zelle das Aussehen eines Kolostrumkörperchens erhält (Fettkörnchenzellen Fig. 47).

Mitunter begegnet man neben den Fettkörnchen auch Fettsäurekristallen. Dieselben erscheinen als gerade oder geschwungene Nadeln, die oft sternförmig gruppiert sind oder strahlenförmig von einem Fettröpfchen ausgehen.

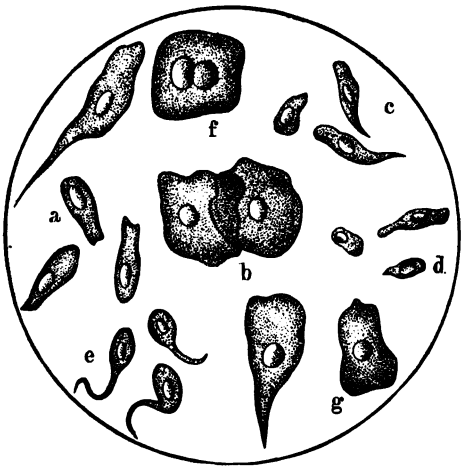
Fett färbt sich mit 1% Osmiumsäure schwarz, mit einer gesättigten, alkoholischen Lösung von Sudan III scharlachrot. Es

ist chemisch charakterisiert durch seine Löslichkeit in Äther, Chloroform und Schwefelkohlenstoff.

Organisierte Sedimente.

Epithelien. Die im Harnsediment vorkommenden Epithelien bieten ein überaus vielgestaltiges Bild dar (Fig. 48). Man kann dieselben nach ihrem Ursprungsort in 3 Kategorien einteilen.

Fig. 48.



a Epithel der männlichen Urethra, *b* der Vagina, *c* der Prostata, *d* der *Cowper*schen Drüsen, *e* der *Littré*schen Drüsen, *f* der weiblichen Urethra, *g* der Blase. (Nach *Loebisch.*)

1. Epithelien der ableitenden Harnwege.
2. Nierenepithelien.
3. Epithelien aus den Genitalien (Präputium, Vagina, Vulva).

Eingehende histologische Untersuchungen haben gezeigt, daß der gesamte Harntrakt vom Nierenbecken bis zur Fossa navicularis urethrae von einem mehrschichtigen Epithel ausgekleidet ist, das bis auf geringe lokale Differenzen überall

den gleichen Typus zeigt. Die oberflächliche Schicht wird zumeist von polygonalen ein- oder mehrkernigen Plattenepithelien gebildet, welche an ihrer unteren Fläche Einbuchtungen zeigen, die durch vorspringende Leisten voneinander getrennt sind. In diese Einbuchtung ragen die Zellen der zweiten Schicht hinein, die sich aus mehreren Reihen ovaler, birnenförmiger, geschwänzter Zellen zusammensetzt. Die unterste Schicht bilden kleine, polygonale oder abgerundete Zellen mit großen Kernen. Der vorderste Teil der Urethra bis zur Fossa navicularis ist von einem mehrschichtigen Pflasterepithel ausgekleidet, während die oberflächliche Schicht der Pars cavernosa und membranacea urethrae nach den Angaben der meisten Untersucher zylindrisch gestaltet ist.

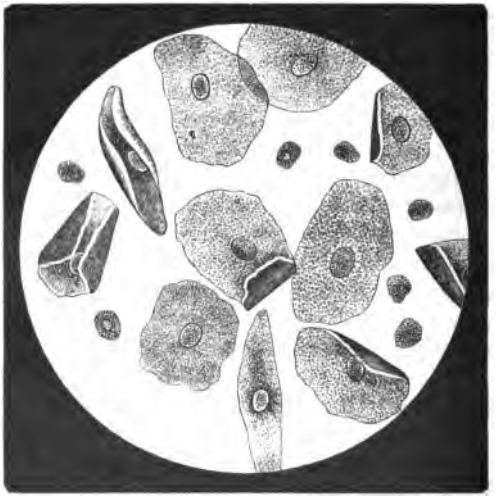
Alle diese Zellformen können in wechselnder Menge im Sediment des Harnes angetroffen werden, ohne da es jedoch, wie aus dem Gesagten ersichtlich, möglich wäre, nach ihrem Aussehen zu entscheiden, welchem Abschnitt der harnableitenden Wege sie entstammen. Ihre Betrachtung kann vielmehr nur darauf hinweisen, welche Schicht der epithelialen Auskleidung an dem Desquamationsprozeß beteiligt ist. So muß auch die vielfach verbreitete Ansicht, daß das Auftreten geschwänzter Epithelien im Harnsediment durch das Bestehen einer Pyelitis bedingt sei, als irrig zurückgewiesen werden, seitdem die histologische Forschung gezeigt hat, daß diese Zellform keineswegs dem Nierenbecken eigentümlich ist.

Jeder normale Harn enthält in der Nubecula beziehungsweise im Niederschlag vereinzelte Plattenepithelien (Fig. 48); kommt es zu entzündlichen Prozessen des Harntraktus, so erscheinen neben anderen Produkten der Entzündung auch die verschiedenen Formen der Epithelzellen in reichlicherer Menge im Sediment. Die Epithelzellen zeigen häufig alle möglichen Degenerationserscheinungen: sie sind aufgequollen, die Kerne undeutlich, das Protoplasma kann Vakuolen enthalten und fettig oder hyalin entartet sein.

Nierenepithelien (Fig. 49). Dieselben präsentieren sich als rundliche oder kubische, scharf begrenzte Zellen mit großen, oft bläschenförmigen Kernen. Das Protoplasma ist feingekörnt und meist mehr oder weniger fettig degeneriert.

Ihre Größe übertrifft wenig die der weißen Blutkörperchen, von denen sie häufig nur durch ihren deutlichen Kern und ihre scharfen Konturen zu unterscheiden sind. Liegen diese Zellen einzeln, so sind sie infolge ihrer Ähnlichkeit mit den Epithelien der untersten Schicht der harnableitenden Wege nicht immer leicht zu erkennen. Erst ihre charakteristische Anordnung zu sogenannten Epithelschläuchen oder das gleichzeitige Vorkommen von Zylindern, denen sie oft aufgelagert sind, sichert

Fig. 50.



Plattenepithelien.

ihren renalen Ursprung. Im ikterischen Harn sind diese Epithelien oft gelb gefärbt.

Das Erscheinen von Nierenepithelien im Sediment deutet stets auf einen Erkrankungsprozeß der Nieren hin.

Die Epithelien aus den Genitalien (Fig. 50), welche sich im Harn finden, stellen große Pflasterzellen dar, die beim Manne aus dem Präputium, bei der Frau aus Vulva und Vagina stammen. Diese Zellen erscheinen häufig wie ge-

faltet und mit umgeschlagenen Rändern. Im Frauenharn, in dem sie normalerweise in großer Anzahl vorhanden sind, sieht man oft schon mit bloßem Auge weiße Flöckchen, welche sich bei der mikroskopischen Untersuchung als zusammenhängende Membranen aus großen Plattenepithelien erweisen.

Leukozyten (Eiterkörperchen Fig. 51). Das Sediment jedes normalen Harns enthält vereinzelte Leukozyten, denen jedoch eine diagnostische Bedeutung nicht zukommt. Im Harn von Frauen, welche an Fluor leiden, treten die Leukozyten reichlicher auf, ohne auf eine Erkrankung des Harnapparates hinzuweisen. In großen Mengen finden sich die Leukozyten im Harn als Bestandteil des Eiters. Der Urin erscheint dann mehr oder weniger trübe und bildet beim Stehen einen Niederschlag, der je nach der Reaktion des Harns einen verschiedenen Charakter zeigt. Im sauren, amphoteren und schwach alkalischen Urin bildet der Eiter einen undurchsichtigen, flockigen, grau- oder gelbweiß gefärbten Bodensatz, welcher vollkommen homogen erscheint oder fadenförmige und krümelige Einschlüsse von Blut, Kristallen etc. enthält. Im Gegensatz zu dem ähnlich aussehenden Phosphatniederschlag ist der eitrige in Essigsäure unlöslich und verwandelt sich auf Zusatz von Ätzkali (Probe von *Donné*) in eine glasig-schleimige, fadenziehende Masse, wie sie auch das Eitersediment des stark alkalischen und ammoniakalischen Harns darstellt. Beim Ausgießen des Gefäßes fällt ein derartiger Bodensatz häufig als gallertartiges, zusammenhängendes Koagulum heraus.

Auch bei der mikroskopischen Untersuchung wechselt das Bild, welches die Leukozyten darbieten, mit der Reaktion des Harns. Im sauren bis schwach alkalischen Urin zeigen dieselben sich als runde, farblose Zellen mit körnigem, lichtbrechendem Protoplasma. Sie besitzen einen oder mehrere Kerne, die ohne Zusatz von Reagenzien nicht deutlich erkennbar sind. Läßt man jedoch einen Tropfen Essigsäure unter das Deckglas laufen, so verschwindet die Körnung, das Protoplasma wird transparent und es werden ein unregelmäßig gestalteter oder mehrere, oft hufeisenförmig gelagerte Kerne mit Kernkörperchen deutlich sichtbar.

Im stark alkalischen und ammoniakalischen Urin finden sich die Eiterkörperchen gewöhnlich im Zustande der Degeneration. Sie sind glasig aufgequollen, durchsichtig, die Granula sind verschwunden oder umgeben als schmaler peripherer Saum die helle zentrale Zone, in welcher der Kern noch deutlich sichtbar ist. Mit dem Fortschreiten der Degeneration verwischen sich die Konturen der einzelnen Zellen, auch die Kerne werden undeutlich, und man sieht schließlich die Leukozyten in einen körnigen Detritus verwandelt, in welchem einzelne freie Kerne und wenige erhalten gebliebene Zellen sichtbar sind.

Vor einer Verwechslung dieser Zerfallsprodukte der Leukozyten mit amorphen Phosphaten schützt ihre Unlöslichkeit in Essigsäure.

Rote Blutkörperchen zeigen sich als runde, bikonkave, gelb gefärbte Scheiben, welche entweder einzeln oder in Haufen liegen. Bei Blutungen aus den Nieren findet man sie auch zylinderartig angeordnet (Blutkörperchenzylinder) oder auf Zylindern liegend. Oft füllen sie das ganze Gesichtsfeld aus und lassen andere Formelemente nicht erkennen. Man bekommt dieselben erst zu Gesicht, wenn man einen Tropfen destillierten Wassers oder verdünnter Essigsäure unter das Deckglas laufen läßt und dadurch die roten Blutkörperchen zur Auflösung bringt.

Sehr häufig bieten die Erythrozyten Veränderungen in Form und Farbe dar, welche von der Konzentration des Harns, seiner Reaktion und der Dauer ihres Aufenthaltes in demselben bedingt sind. Während sie im schwach sauren Urin lange ihr typisches Aussehen bewahren, erscheinen sie im konzentrierten und stark sauren Harn geschrumpft und zeigen dann die bekannte Stechapfelform. Bei stark alkalischer Reaktion gehen sie zugrunde und zerfallen schließlich zu rotbraunen, aus Blutpigment bestehenden Häufchen und Schollen (cf. Hämoglobin).

Nach längerem Kontakt mit dem Harn und im sehr diluierten Urin wird allmählich ihr Farbstoff ausgelaugt, sie quellen auf und erscheinen als farblose, ringförmige Gebilde (Blutschatten), welche, besonders wenn sie vereinzelt auftreten, nur schwer erkennbar sind.

Rote Blutkörperchen können mitunter mit den im Harn vorkommenden Hefezellen verwechselt werden. Zur Unterscheidung setzt man einen Tropfen $^1/_2$ %iger Essigsäure hinzu; rote Blutkörperchen werden fast vollständig aufgelöst und unsichtbar, Hefezellen verändern sich nicht.

Nicht selten begegnet man im bluthaltigen Harn Gerinnseln, welche auch mit bloßem Auge wahrnehmbar sind. Dieselben bieten in ihrem makroskopischen Aussehen mannigfache Unterschiede dar: sie sind bald unregelmäßig klumpig oder flockig gestaltet, bald erscheinen sie als fadenförmige, stäbchen- oder wurmartige Gebilde, welche die Dicke eines Fingers und die Länge von mehreren Zentimetern erreichen können. Sie sind rot, rotbraun oder schwarzbraun, häufig auch grauweiß gefärbt. Im letzteren Falle handelt es sich um Koagula, welche schon längere Zeit dem Harn beigemischt waren.

Eine diagnostische Bedeutung wird den langen, schmalen Gerinnseln zugeschrieben. Da der Ureter als ihre Bildungsstätte gilt, wird bei ihrem Auftreten die Quelle der Blutung in den Harnleiter selbst oder in die Niere bzw. das Nierenbecken verlegt. Jedoch ist daran zu denken, daß derartige Koagula auch dem Durchtritt durch die Harnröhre ihre Gestalt verdanken können. Die Form des Gerinnsels allein genügt daher nicht zur Feststellung des Ortes der Blutung, man muß vielmehr alle anderen die Hämaturie begleitenden Erscheinungen dazu in Betracht ziehen.

Bei der mikroskopischen Untersuchung zeigen die Blutkoagula ein Netzwerk von Fibrinfasern, dessen Maschen mit unversehrten oder mehr oder minder veränderten roten Blutkörperchen in wechselnder Zahl ausgefüllt sind.

Dem mikrochemischen Nachweis von Blut dient die *Teichmann*sche Probe (cf. Seite 54).

Fibrin (Fig. 52). Neben den beschriebenen Blutgerinnseln, deren Gerüstsubstanzen Fibrinfasern bilden, findet man sowohl im blutigen Harn als auch im Urin nach Ablauf der Hämaturie nur aus Fibrinfasern bestehende Gebilde.

In größerer makroskopisch sichtbarer Menge wird Fibrin mit dem Harn in den seltenen Fällen sogenannter Fibrin-

urie und bei Chylurie ausgeschieden. Hier bildet dasselbe entweder schon bei der Entleerung des Urins oder erst einige Zeit nachher weiße gallertartige Gerinnsel.

Bei der mikroskopischen Betrachtung zeigt sich, daß die Fibringerinnsel aus Bündeln parallel gelagerter, lichtbrechender Fasern bestehen, die weiß oder rötlichgelb gefärbt sind. In zweifelhaften Fällen kann zur Sicherung der Diagnose die *Weigert*sche Fibrinfärbemethode herangezogen werden (Fig. 53).

Harnzylinder (Fig. 53). Die Harnzylinder sind nur mikroskopisch nachweisbare, drehrunde, walzenförmige Gebilde von wechselnder Länge und Dicke, mit scharf abgegrenzten, parallelen Konturen und abgerundeten Enden. Sie verlaufen bald geradlinig, bald spiralig gewunden, oft sind sie geknickt oder zeigen am Rande Einkerbungen. Häufig erscheint das eine Ende des Zylinders schräg abgebrochen, und auch Bruchstücken, welche nur durch Vergleich mit wohlerhaltenen Zylindern als solche erkannt werden können, begegnet man nicht selten.

Die Zylinder sind renalen Ursprungs und verdanken ihre Form den Harnkanälchen, aus welchen sie vom Urin herausgespült werden.

Man unterscheidet: 1. Zylinder, welche aus Zellen zusammengesetzt sind, 2. granulierte, 3. hyaline, 4. wachsartige Zylinder.

Die Zylinder der ersten Gruppe werden je nach der Zellform, aus der sie gebildet sind, als epitheliale, Blutkörperchen- oder Leukozytenzylinder bezeichnet.

Die Nierenepithelien, aus welchen sich die Epithelzylinder zusammensetzen, sind fast nie vollkommen unversehrt, meist sind sie körnig oder fett degeneriert.

Ist der Zerfall noch weiter vorgeschritten, sind die Zellgrenzen verwischt, die Kerne nur schwer zu erkennen oder ganz verschwunden, so geht schließlich der epitheliale Charakter völlig verloren und es entsteht das Bild des granulierten Zylinders. Nicht selten zeigt die eine Hälfte eines Zylinders noch deutlich epitheliales Aussehen, während die andere schon granuliert erscheint.

Die granulierten Zylinder bieten eine gekörnte Oberfläche dar, welche ihnen ein dunkles Aussehen verleiht. Die Granulationen, welche ihrer Entstehungsweise entsprechend aus Eiweiß- oder Fettkörnchen bestehen können, sind bald kleiner, bald größer, und man unterscheidet danach fein- und grobgranulierte Zylinder. Sind es hauptsächlich feinste Fettröpfchen, welche sie zusammensetzen, so spricht man auch von Fettkörnchenzylindern, welche durch ihr glänzendes Aussehen, das sie dem Lichtbrechungsvermögen des Fettes verdanken, auffallen.

Im Frauenharn, der oft zahlreiche körnig degenerierte, länglich geformte Epithelien aus den äußeren Genitalien enthält, macht das Erkennen der granulierten Zylinder erfahrungsgemäß Schwierigkeiten; jedoch schützt vor einer Verwechslung derselben mit den Epithelien der meist deutlich sichtbare Kern der letzteren.

Die hyalinen Zylinder zeigen eine blasse, ganz homogene, durchsichtige Grundsubstanz, deren Umrisse aber stets deutlich hervortreten. Oft sind diese struktur- und farblosen Gebilde so zart, daß sie nicht ohne Mühe erkannt werden können. Erleichtert wird ihr Auffinden durch die Auflagerungen, welche sie vielfach besitzen. Zellige Elemente, wie Nierenepithelien, rote und weiße Blutkörperchen, ferner Fettröpfchen, körniger Detritus, Mikroorganismen und Salze bedecken sie oft in kleinerer oder größerer Ausdehnung.

Um das Auffinden der hyalinen Zylinder zu erleichtern, wird empfohlen, dieselben zu färben, indem man dem Sediment einige Tropfen *Lugol*scher Lösung oder gesättigter wässeriger Pikrinsäurelösung zusetzt. Auch dünne, wässerige Fuchsin- und Methylenblaulösung dienen diesem Zwecke.

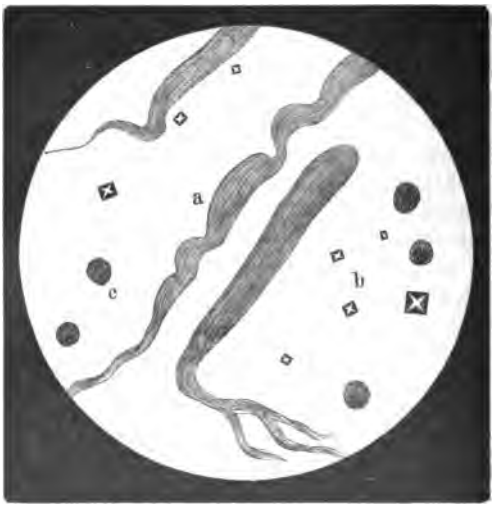
Die wachsartigen Zylinder besitzen ebenso wie die hyalinen eine homogene Grundsubstanz, sind jedoch breiter, voluminöser und von derberer Konsistenz. Sie sind von wachsartigem, mattglänzendem Aussehen und gelblicher Färbung und zeigen häufig tiefe seitliche Einkerbungen; mitunter findet man auffallend breite, kurze Formen.

Von den echten Zylindern zu trennen sind zylinderähnliche Gebilde, welche man in normalen und pathologischen

Harnen antrifft, die sogenannten Zylindroide (Fig. 54). Am ehesten können dieselben zur Verwechslung mit hyalinen Zylindern Anlaß geben. Im Gegensatz zu diesen erscheint ihre Grundsubstanz nicht homogen, sondern zeigt meist deutliche Längsstreifung; ferner enden sie gewöhnlich aufgefasert oder gabelig geteilt.

Nicht selten findet man im Sediment Bakterienhaufen, die in ihrer Form granulierten Zylindern gleichen und als

Fig. 54.



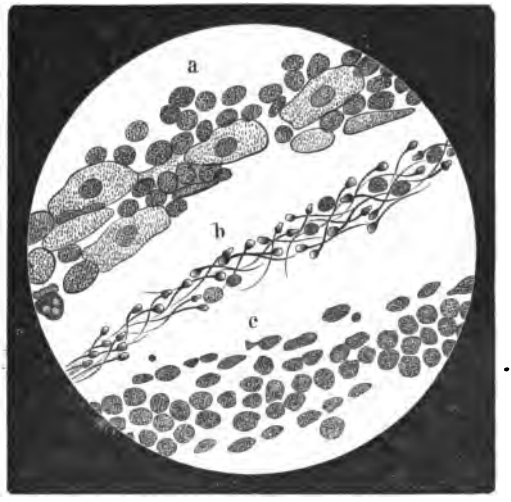
a Zylindroide, *b* Kristalle von oxalsaurem Kalk, *c* Leukozyten.

Bakterienzylinder bezeichnet werden. Die Betrachtung mit starker Vergrößerung und schließlich die Färbung mit verdünnten wässerigen Lösungen von Fuchsin oder Methylenblau lassen einen Zweifel über die Natur dieser Gebilde nicht aufkommen.

Gewebspartikel. Das Auftreten von Gewebsfragmenten im Harn ist im ganzen ein ziemlich seltener Befund. Dieselben können im trüben Urin, besonders wenn er Blut und

Eiter enthält, leicht übersehen werden. Um dies zu vermeiden, gießt man derartigen Harn am besten in eine flache Schale aus, in der man ihn bequem durchmustern kann. Man fischt die Partikel heraus und bringt sie gesondert zur Untersuchung. Die Entleerung von Gewebspartikeln mit dem Harn ist beobachtet bei Tumoren der Nieren und harnableitenden Wege, bei schwerer septischer Cystitis, die zur Gangrän der Blasenschleimhaut geführt hat, sowie bei eitriger Nierenentzündung.

Fig. 55.



a Harnfilament, bestehend aus Eiter- und Epithelzellen, *b* Harnfilament, bestehend aus Spermatozoen und vereinzelten Leukozyten, *c* Harnfilament, bestehend aus Eiterkörperchen.

Auch wenn Tumoren der Nachbarorgane in den Harnapparat durchbrechen, können natürlich Geschwulstpartikel mit dem Urin abgehen. Gewebspartikel müssen einer speziellen histologischen Untersuchung unterzogen werden.

Harnfilamente (Urethralfäden) (Fig. 55). Als Harnfilamente bezeichnet man kleine Fäden und Flocken, welche als Produkt der eitrigen oder schleimigen Sekretion der

Harnröhre und Genitaldrüsen mit dem Urin entleert werden. Sie sind von wechselnder Größe, oft 1—2 *cm* lang und erscheinen schleimig-gelatinös oder gelb und undurchsichtig. Aber auch mannigfache Übergänge zwischen diesen beiden Typen kommen zur Beobachtung.

Die Filamente finden sich im Harn bei chronischer Gonorrhoe (Tripperfäden), ferner im Urin an Urethrorrhoe leidender Neurastheniker, mitunter auch im ersten Morgenharn Gesunder.

Das Bild, welches die Urethralfäden in den beiden zuletzt genannten Fällen unter dem Mikroskop darbieten, ist das gleiche. Sie bestehen aus einer homogenen, durchsichtigen Grundsubstanz, in welche Epithelien in wechselnder Menge und vereinzelte Leukozyten sowie oft auch amorphe und kristallinische Salze eingebettet sind.

Die Tripperfäden setzen sich entweder aus dichten Anhäufungen von Eiterzellen zusammen, oder sie enthalten Eiter- und Epithelzellen nebeneinander, wobei bald die einen, bald die anderen vorwiegen; schließlich können sie auch allein aus Epithelzellen gebildet sein. In Fällen, in welchen der Urinentleerung eine Samenejakulation vorausgegangen ist, sowie bei Personen, welche an Spermatorrhoe leiden, finden sich gleichzeitig mehr oder weniger zahlreiche Spermatozoen in den Filamenten.

Bei der mikroskopischen Betrachtung zeigt sich, daß das makroskopische Aussehen der Urethralfäden von ihrem Gehalt an zelligen Elementen abhängt. Je zellarmer sie sind, desto mehr entsprechen sie dem Typus der schleimig-gelatinösen Fäden.

Zur mikroskopischen Untersuchung der Filamente benutzt man am besten den ersten Morgenharn, von dem man nur die ersten 10—15 cm^3 auffangen läßt, da besonders die gelben Fäden gewöhnlich sehr bröcklig sind und sich in einer größeren Harnmenge leicht auflösen.

Man fischt sie mit einer Pipette oder gebogenen Nadel heraus und breitet sie vorsichtig auf dem Objektträger zur Untersuchung aus.

Sekret aus den Genitaldrüsen (Fig. 56). Einen recht häufigen Bestandteil des Harnsediments bilden die Spermatozoen. Sie finden sich im Urin nach Koitus und Pollutionen, ferner bei Erkrankungen der Genitalorgane sowie nach Krampfanfällen und bei schweren, fieberhaften Krankheiten, besonders bei Typhus. Sie treten bald vereinzelt, bald in großer Menge auf, häufig fadenförmig angeordnet. Auch im Urin von Frauen, welcher nach einer Kohabitation entleert wird, können Spermatozoen nachweisbar sein.

Mitunter sind sie noch in lebhafter, schlängelnder Bewegung, sehr häufig bewegungslos. Daneben zeigen sich bisweilen große rundliche Zellen mit deutlichen Kernen, welche Samenfäden einschließen. Nicht selten sieht man ferner zarte, blasse zylindrische Gebilde mit homogener Grundsubstanz, welche aus den Hodenkanälchen stammen und in ihrem Aussehen hyalinen Zylindern gleichen, sog. Hodenzylinder. Die gleichzeitige Anwesenheit der Spermatozoen, welche den Hodenzylindern oft aufliegen, differenziert diese von den echten hyalinen Zylindern.

Prostatasekret ist bei Erkrankungen der Prostata und nach Massage derselben (Expressionsharn) dem Urin beigemischt. Es finden sich alsdann im Sediment zahlreiche hellglänzende kleine Körner, Lecithinkörnchen genannt, ferner rundlich oder eckig gestaltete Gebilde mit deutlicher konzentrischer Schichtung, welche als Prostatakörper oder auch, weil sie in ihrem Aussehen Stärkekörnern gleichen, als Corpora amylacea bezeichnet werden.

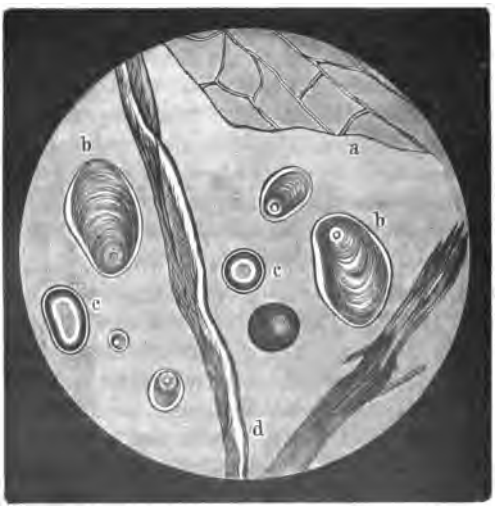
Tierische Parasiten. Unter den im Harn vorkommenden tierischen Parasiten ist es vor allem der Echinokokkus, welcher unser Interesse erweckt, da die übrigen entweder in unseren Breiten nicht beobachtet werden oder nur zufällige Befunde darstellen, ohne eine pathognomonische Bedeutung zu besitzen.

Echinokokkus-Bestandteile (Fig. 57) erscheinen im Urin, wenn der Echinokokkus sich im Harnapparat selbst entwickelt hat oder aus der Nachbarschaft in denselben durchgebrochen ist.

Man findet alsdann ganze Blasen, welche in großer Menge entleert werden können, ferner die überaus charakteristischen Haken sowie einzelne Membranfetzen, deren deutlich geschichtete Struktur sie leicht erkennen läßt.

Seltenere Befunde stellen dar: Embryonen der Filaria sanguinis (bei tropischer Chylurie), Eier von Eustrongylus gigas, Eier von Distoma haematobium (bei Bilharziakrankheit).

Fig. 58.



a Pflanzenzellen, *b* Amylumkörner, *c* Luftblasen, *d* Pflanzenfasern.

Vollkommen bedeutungslos sind die Infusorien Cercomonas urinarius und Trichomonas vaginalis, welche mitunter im Harnsediment vorkommen.

Als zufällige Beimengungen sieht man mitunter im Sediment Amöben, Fliegenlarven, auch Pediculi pubis.

Verunreinigungen des Sediments (Fig. 58). Das Vorkommen von Nahrungsresten, Pflanzenzellen, Muskelfasern etc. im Sediment weist darauf hin, daß Bestandteile der Fäces

in den Harn gelangt sind. Ist eine Blasenmastdarmfistel die Ursache dieser Beimengungen, so wird der Harn gleichzeitig die Symptome einer schweren Cystitis zeigen. Sehr viel häufiger jedoch ist es ein mit Darminhalt verunreinigtes Uringefäß, welchem die im Niederschlag nachweisbaren Fäcesbestandteile entstammen.

Ferner können sich Sputumreste, Haare, pflanzliche und tierische Fasern, Amylumkörner, Fett, Schimmel- und Sproßpilze als zufällige Bestandteile im Harnsediment finden.

VIII. Bakteriologische Untersuchung des Harns.

Gewinnung des Harns zur Untersuchung.

Die Entnahme des Harns zur bakteriologischen Untersuchung geschieht am besten mittelst sterilen Katheters nach gründlicher Reinigung der äußeren Genitalien und Ausspülung der vorderen Harnröhre, die normalerweise der Sitz einer reichen Bakterienflora ist. Den zuerst sich entleerenden Harn, der trotz der Ausspülung noch Mikroorganismen oder Sekret enthalten kann, die durch den Katheter aus der Harnröhre in die Blase verschleppt sind, läßt man ablaufen und fängt erst die nachfolgende Portion in einem sterilen Gefäße auf. Ist aus irgend einem Grunde Katheterharn nicht zu erlangen, so läßt man den Urin entleeren, nachdem eine Reinigung der äußeren Genitalien und Ausspülung der Harnröhre erfolgt sind. Zur Untersuchung verwendet man gleichfalls die zweite Portion, welche die durch den ersten Urinstrahl bereits abgespülte Harnröhre passiert hat.

Die Untersuchung des Urins soll möglichst bald nach seiner Entleerung vorgenommen werden, da die in demselben enthaltenden Mikroorganismen sich meist schnell vermehren.

Vorbereitung des Harns zur Untersuchung.

In den meisten Fällen ist es empfehlenswert, den Urin in sterilen Röhrchen zu zentrifugieren und erst das so erhaltene Sediment zur Untersuchung zu benutzen. Nur wenn der Harn sehr reich an Bakterien ist, wovon man sich durch

die Betrachtung im hängenden Tropfen leicht überzeugen kann, genügt es, einen beliebigen Tropfen zur Untersuchung zu entnehmen, so z. B. bei der sogenannten Bakteriurie, zumal hier auch durch Zentrifugieren kein erhebliches Sediment zu erzielen ist. Derartigem Harn kann man zur Gewinnung eines Niederschlages absoluten Alkohol zusetzen, dadurch wird die Flüssigkeit spezifisch leichter und die darin enthaltenen Formenelemente senken sich infolgedessen beim Zentrifugieren zu Boden. Ammoniakalischen Harn wird man häufig, um ein Sediment zu erhalten, mit verdünnter Kalilauge im Wasserbade erhitzen müssen. Zu Züchtungsversuchen ist natürlich in den beiden letzten Fällen der Niederschlag nicht mehr brauchbar. In uratreichen Harnen bringt man vor der Verarbeitung die Salze durch leichtes Erwärmen zur Auflösung; zu diesem Zwecke kann man den Urin auf kurze Zeit in den Brutschrank bei 37° stellen.

Methoden der Untersuchung.

Bei der bakteriologischen Untersuchung des Harns gelangen das gefärbte Ausstrichpräparat, das Kulturverfahren und der Tierversuch zur Verwendung.

Das Ausstrichpräparat wird in der üblichen Weise hergestellt; bei Anwesenheit zahlreicher Kristallsalze wird jedoch am besten in absolutem Alkohol (10 Minuten), bei Gegenwart von Fett oder Blut in Alkohol und Äther āā (3 Minuten) fixiert. Die Präparate werden mit verdünntem Borax-Methylenblau (1 : 9) 2 Minuten, ohne zu erwärmen, ferner nach der *Gram*schen Methode und nach einem der Verfahren gefärbt, welche dem Nachweis von Tuberkelbazillen dienen.

Kulturverfahren. Zur Isolierung der im Harn befindlichen Bakterien bedient man sich meist des Agarnährbodens. Nur zum Nachweis der Tuberkelbazillen und Gonokokken sind besondere Nährböden erforderlich.

Der Tierversuch kommt gewöhnlich nur in Frage, wenn es sich um die Diagnose einer tuberkulösen Erkrankung der Harnorgane handelt. Als Versuchstier dient das Meerschweinchen, das in der bei der Sputumuntersuchung

geschilderten Weise mit dem durch Zentrifugieren des Harns gewonnenen Sediment geimpft wird.

Bei der Untersuchung des Harns kommen als Krankheitserreger in Betracht die zu der Bacterium coli-Gruppe gehörigen Stäbchen, ferner Tuberkelbazillen, Staphylo-, Strepto-, Gonokokken, Typhusbazillen, Proteus vulgaris, Bac. pyocyaneus.

Häufig zeigt sich in dem aus dem Sediment des zentrifugierten Harns gefärbten Präparaten ein Gemisch verschiedenartiger Mikroorganismen. Alsdann ist nicht zu entscheiden, welche Bakterien als eigentliche Erreger der Erkrankung anzusehen sind, zumal das Bild, welches die Bakterienflora in diesen Fällen darbietet, nicht immer konstant ist, sondern bei den einzelnen Untersuchungen wechselt. Es handelt sich hierbei um Zersetzungsbakterien, welche sich erst nachträglich in der erkrankten Blase angesiedelt haben, und es hat daher nur einen wissenschaftlichen, keinen diagnostischen Wert, diese verschiedenen Bakterien zu isolieren und zu identifizieren.

Der weitaus häufigste Erreger von Cystitis und Pyelitis ist das Bacterium coli (Fig. 59), auch durch dasselbe bedingte Bakteriurien werden oft beobachtet. Der Harn zeigt, solange sich keine Zersetzungsbakterien angesiedelt haben, saure Reaktion.

Unter dem Namen **Bacterium coli** wird eine Gruppe von Bazillen zusammengefaßt, in deren Mittelpunkt das typische, von *Escherich* aus dem Säuglingsdarm gezüchtete Bacterium coli steht. Weisen die einzelnen hierher gehörigen Arten auch in morphologischer und biologischer Beziehung Differenzen auf, die bis zu einem gewissen Grade von den äußeren Lebensbedingungen abhängen, so besitzen sie doch eine Reihe konstanter, allen gemeinsamer Merkmale. Zu den letzteren zählen das üppige Wachstum auf allen gebräuchlichen Nährböden, die mangelnde Fähigkeit zur Verflüssigung der Gelatine und zur Sporenbildung, die Entfärbung nach der *Gram*schen Methode. Mannigfache Abweichungen im Sinne einer Steigerung oder Abschwächung zeigen die einzelnen Arten in ihrer Beweglichkeit, der Zuckervergärung, der Milchgewinnung, Indolbildung etc.

Bacterium coli zeigt sich in dem aus dem Harnsediment gefärbten Präparat als plumpes, gerades Stäbchen mit abgerundeten Enden von wechselnder Länge. Die Bakterien liegen einzeln, paarweise oder in Haufen und bilden oft lange Scheinfäden, seltener finden sie sich intrazellulär. In den nach der *Gram*schen Methode hergestellten Präparaten erscheint das Bacterium coli entfärbt.

Die Züchtung auf Agar gelingt sehr leicht; nach 24stündigem Wachstum bei 37° haben sich grauweiße Kolonien entwickelt.

Über die Identifizierung der gezüchteten Bakterien durch Überimpfung auf Lackmusmolke, Neutralrotagar, Milch etc. vergleiche Untersuchung der Fäces auf Typhusbazillen (Seite 91).

Staphylokokken und Streptokokken finden sich seltener als Bacterium coli als selbständige Krankheitserreger im Urin, häufiger treten sie als mischinfizierende Bakterien bei Cystitis und Pyelitis auf.

Beide Kokkenarten verhalten sich dem *Gram*schen Verfahren gegenüber positiv und kommen daher besonders deutlich in den nach dieser Methode gefärbten Präparaten zu Gesicht. Die Staphylokokken liegen nicht selten intrazellulär. Differentielldiagnostisch kommen ihnen gegenüber nur die Gonokokken in Betracht, von denen sie sich jedoch durch ihre Form, ihr tinktorielles Verhalten und die leichte Züchtbarkeit auf den gebräuchlichen Nährböden ohne weiteres unterscheiden. Bezüglich des kulturellen Verhaltens vergleiche das Kapitel über Untersuchung des Sputums.

Tuberkelbazillen (Fig. 60). Der Harn, welcher bei tuberkulösen Erkrankungen der Harnorgane entleert wird, reagiert sauer, solange nicht Zersetzungsbakterien in die Blase gelangt sind. Sauer reagierende Eiterharne, in welchen weder im Ausstrichpräparat, noch durch Kulturverfahren Bakterien nachweisbar sind, erscheinen immer verdächtig auf Tuberkulose.

Die Färbung der Präparate auf Tuberkelbazillen wird in der gleichen Weise wie bei der Untersuchung des Sputums vorgenommen. Auch in ihrem Aussehen weichen die Tuberkelbazillen nicht von dem Bilde ab, das sie im Auswurf darbieten.

Die Menge, in welcher sie im Harn erscheinen, ist eine sehr wechselnde: bei tuberkulöser Cystitis finden sie sich oft in großer Anzahl, sie liegen dann einzeln oder in Haufen, häufig in charakteristischen, zopf- oder S-förmig gestalteten Zügen. In anderen Fällen, besonders bei tuberkulösen Erkrankungen der Nieren, ist ihr Nachweis oft überaus schwierig, und es müssen eine große Reihe von Präparaten durchgesehen werden, ehe das erste Stäbchen gefunden wird. Gelingt der Nachweis der Krankheitserreger in dem Sediment des in üblicher Weise zentrifugierten Harns nicht, so kommt man mitunter zum Ziel, wenn man eine möglichst große Urinmenge zirka 12 Stunden unter Thymolzusatz im Spitzglas sedimentieren läßt und den auf diese Weise erhaltenen Bodenzusatz zentrifugiert. Entsteht beim Sedimentieren kein Niederschlag, so zentrifugiert man eine möglichst große Urinmenge in einem und demselben Zentrifugierröhrchen.

Das Kulturverfahren läßt bei der Untersuchung des Harns auf Tuberkelbazillen in der Regel im Stich, da ihre Züchtung auch auf Agar *Hesse* nur dann gelingt, wenn sie in großer Menge vorhanden sind.

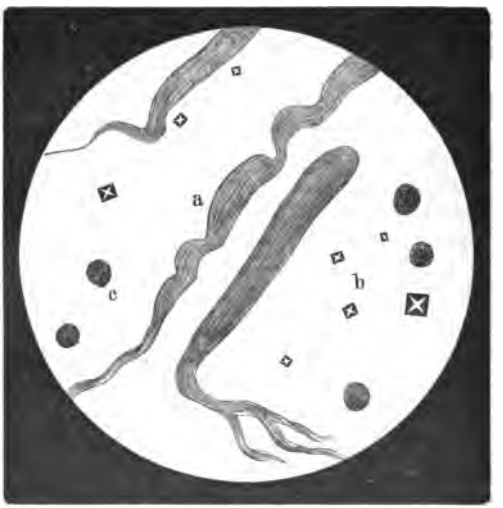
Sichere Resultate liefert der Tierversuch, der auch dann noch zu einem positiven Ergebnis führt, wenn im gefärbten Ausstrichpräparate der Nachweis der Tuberkelbazillen nicht erbracht werden kann.

Bei der Untersuchung des Harns auf Tuberkelbazillen ist das häufige Vorkommen von Smegmabazillen in demselben zu berücksichtigen. Beide gehören zur Gruppe der säurefesten Bakterien und sind deshalb im gefärbten Ausstrichpräparat nicht ohne weiteres voneinander zu unterscheiden. Auch die von *Czaplewski, Pappenheim* und anderen Autoren angegebenen Färbemethoden (cf. Seite 270), bei deren Anwendung nur die Tuberkelbazillen den roten Farbstoff festhalten, während die Smegmabazillen blau gefärbt erscheinen, gestatten nicht, die Differentialdiagnose mit Sicherheit zu stellen. Diese Methoden sind natürlich vor allem unanwendbar, wenn nur ganz vereinzelte verdächtige Stäbchen im Präparate nachweisbar sind. Auch das Kulturverfahren ist zur Differentialdiagnose nicht verwertbar, da die Züchtung der Smegmabazillen überhaupt

Harnen antrifft, die sogenannten Zylindroide (Fig. 54). Am ehesten können dieselben zur Verwechslung mit hyalinen Zylindern Anlaß geben. Im Gegensatz zu diesen erscheint ihre Grundsubstanz nicht homogen, sondern zeigt meist deutliche Längsstreifung; ferner enden sie gewöhnlich aufgefasert oder gabelig geteilt.

Nicht selten findet man im Sediment Bakterienhaufen, die in ihrer Form granulierten Zylindern gleichen und als

Fig. 54.



a Zylindroide, *b* Kristalle von oxalsaurem Kalk, *c* Leukozyten.

Bakterienzylinder bezeichnet werden. Die Betrachtung mit starker Vergrößerung und schließlich die Färbung mit verdünnten wässerigen Lösungen von Fuchsin oder Methylenblau lassen einen Zweifel über die Natur dieser Gebilde nicht aufkommen.

Gewebspartikel. Das Auftreten von Gewebsfragmenten im Harn ist im ganzen ein ziemlich seltener Befund. Dieselben können im trüben Urin, besonders wenn er Blut und

einzelne Individuen verhalten sich bei starker Färbung nicht ganz refraktär. Im hängenden Tropfen erscheinen sie lebhaft beweglich. Charakteristisch ist das Wachstum auf Gelatine. Es entstehen graue zarte Kolonien, welche bald einsinken und wellenförmige Vertiefungen bilden, die in der Mitte eine weißliche Masse zeigen und von einem hellen Hof umgeben sind. Die Kolonien breiten sich über den Nährboden durch Bildung strahliger Ausläufer aus, die sich von der Mutterkolonie ganz trennen können. Proteus vulgaris vergärt Trauben- und Rohrzucker, Milchzucker dagegen nicht, koaguliert Milch und bildet reichlich Indol. Eiweißkörper werden unter Erzeugung stinkender Produkte zersetzt.

Bacillus pyocyaneus ist sowohl als selbständiger Krankheitserreger als auch zusammen mit anderen Bakterien bei Entzündungen der Blase gefunden worden. (Über sein mikroskopisches und kulturelles Verhalten cf. Seite 41).

VIII. KAPITEL.

Untersuchung des Harnröhren- und Prostatasekrets.

Bei der bakteriologischen Untersuchung des Harnröhrensekrets kommt es hauptsächlich auf den Nachweis von Gonokokken an, auf welche in den weitaus meisten Fällen die Entzündung der Harnröhre zurückzuführen ist. Urethritis non gonorrhoica gehört zu den Seltenheiten, als Erreger derselben findet sich am häufigsten Bact. coli, aber auch Staphylokokken, diphtheroide Stäbchen und andere Mikroorganismen der normalen Harnröhrenflora können mitunter Entzündungen der Urethra hervorrufen.

Bei akuter Urethritis des Mannes wird das Sekret mittelst Platinöse aus der Harnröhre entnommen und in dünner Schicht gleichmäßig auf dem Deckglase respektive dem Objektträger ausgestrichen. Bei Frauen wird ebenfalls das Sekret der Urethra oder das des Cervix uteri zur Untersuchung benutzt. Vaginalsekret ist durchaus ungeeignet, da dasselbe gewöhnlich große Mengen verschiedenartiger Mikroorganismen enthält, unter denen die Gonokokken kaum herauszufinden sind.

Nur bei kleinen Mädchen gelingt der Nachweis der Gonokokken im Vaginalsekret sehr leicht.

Bei der chronischen Gonorrhoe des Mannes werden der Morgentropfen oder die im Harn sichtbaren Filamente der Untersuchung unterzogen. Die letzteren sind am reichlichsten im ersten Morgenharn nachweisbar. Da sie mit dem ersten Harnstrahl aus der Urethra herausgespült werden und sich in größeren Urinmengen leicht auflösen, läßt man nur eine kleine Menge (etwa die ersten 20—30 cm^3) zur Untersuchung auffangen. Filamente fischt man mittelst Pipette aus dem Urin heraus und breitet sie auf dem Deckglase aus, ohne sie zu zerreiben.

Mikroskopische Untersuchung. Die Ausstrichpräparate werden nach *Gram* und mit sehr verdünnter Methylenblaulösung gefärbt (Fig. 61) welche die Kerne nur schwach, die Gonokokken aber noch sehr intensiv tingiert. Die zahlreichen Doppelfärbungen, welche angegeben sind, haben keinen diagnostischen Wert; sie erleichtern allenfalls das Auffinden einzelner Kokken. Sehr empfehlenswert ist die *May-Grünwald*sche Methode. Erwähnt seien ferner die *Schäffer*sche, *Pick*- und *Jacobsohn*sche und die *Pappenheim*sche, von *Krystallowicz* modifizierte Färbung; bei der letzteren werden Gonokokken leuchtend rot, die Kerne blaßgrün, das Protoplasma schwachrosa gefärbt (cf. Seite 272). Diese Färbungen geben nur dann gute Resultate, wenn die Präparate dünn und gleichmäßig ausgestrichen sind. Die Gonokokken präsentieren sich im gefärbten Präparat als Diplokokken, welche gewöhnlich Semmel- oder Kaffeebohnenform aufweisen. Sie liegen selten einzeln, meist in Gruppen zusammen. Im eitrigen Ausfluß finden sie sich fast ausschließlich innerhalb der Eiterzellen, die dann oft mit ihnen vollgepfropft erscheinen.

Im ersten Stadium der Gonorrhoe, in dem das schleimige Sekret zahlreiche Epithelzellen und weniger Leukozyten enthält, liegen die Gonokokken häufig extrazellulär, sie bedecken dann oft die Epithelzellen so dicht, daß dieselben wie damit bepflastert aussehen. Auch im schleimigeitrigen Sekret der chronischen Gonorrhoe finden sie sich vorwiegend außerhalb Zellen.

Von differentialdiagnostischer Bedeutung ist ihr negatives Verhalten gegenüber der *Gram*schen Methode.

Züchtungsverfahren. Die Gonokokken kommen auf den gebräuchlichen Nährböden nicht zur Entwicklung; zu ihrer Züchtung bedarf es eines Nährbodens mit einem serösen Zusatz, der am besten von Menschen stammt. Der Nährboden muß so hergestellt werden, daß das in dem Serum enthaltene Eiweiß nicht gerinnt.

Die günstigsten Wachstumsbedingungen bietet der *Wertheim*sche Serumagar, welcher aus einer Mischung von 2 bis 3 Teilen Fleischwasser-Pepton-Agar mit einem Teil menschlichen Blutserums besteht. An Stelle des Blutserums können auch seröse Flüssigkeiten des Menschen, wie Hydrokelen-, Cysten-Inhalt, Aszites- und Hydrothoraxflüssigkeit treten. Die letzteren Nährböden sind jedoch nicht absolut zuverlässig, da aus unbekannten Gründen das Gonokokkenwachstum auf ihnen mitunter ausbleibt. Das Serum wird mit dem Agar stets erst kurz vor dem Gebrauch gemischt, indem man es auf 40° erwärmt, dem aufgeschmolzenen und auf 50° abgekühlten Agar zufügt und in Röhrchen schräg erstarren läßt. Schließlich sei auch der *Wassermann*sche Schweineserum-Nutroseagar erwähnt, auf dem Gonokokken jedoch nicht regelmäßig und nur spärlich zur Entwicklung kommen. (Bereitung der Nährböden cf. Seite 288 u. 289.)

Aussehen der Kulturen. Nach 24stündigem Wachstum bei 36° zeigen sich runde, leicht grau gefärbte, durchscheinende Kolonien von eigentümlich zähschleimiger Konsistenz und der Größe eines kleinen Stecknadelkopfes. Die einzelnen Kolonien fließen nicht zusammen und gleichen in ihrem Aussehen am meisten denen der Streptokokken. Charakteristisch sind in den aus Kulturen hergestellten Präparaten die zahlreichen Degenerationsformen, welche sich bereits in 24 Stunden alten Kolonien neben typisch gestalteten Diplokokken erkennen lassen. Die Degenerationsformen erscheinen aufgequollen und sind schlecht färbbar.

Differentialdiagnose. Bei der Untersuchung von Sekreten, welche aus den Genitalien stammen, sind die morphologischen und tinktoriellen Eigenschaften der Gono-

kokken ausreichend, um die Diagnose mit vollständiger Sicherheit zu stellen. Die den Gonokokken eigentümliche Form, ihre charakteristische Lagerung, ihre Entfärbbarkeit nach *Gram* ermöglichen hier meist ohne weiteres ihre Differenzierung von anderen Eiterkokken. Nur in vereinzelten Fällen kann das Auffinden verdächtiger Diplokokken das Kulturverfahren erforderlich machen, namentlich wenn es sich um wichtige Entscheidungen (Ehekonsens, gerichtliche Gutachten) handelt. Man macht dann außer auf dem Serumnährboden auch Ausstriche auf gewöhnlichem Agar, weil gerade der negative Ausfall des Züchtungsverfahrens auf dem letzteren für die Diagnose besonders wertvoll ist. In Fällen chronischer Urethritis, in welchen durch mikroskopische Untersuchung keine Gonokokken nachweisbar sind, versagt auch meist das Kulturverfahren. Man wird sich daher vorläufig noch auf eine gründliche, möglichst oft zu wiederholende mikroskopische Untersuchung eventuell unter Zuhilfenahme der provokatorischen Reizung beschränken müssen.

Kulturversuche sind unentbehrlich, um bei extragenitalen Erkrankungen Gonokokken zu identifizieren.

Mitunter ist es erforderlich, ein Präparat, das verdächtige Kokken enthält (z. B. bei der Untersuchung von Filamenten), nach der *Gram*schen Methode umzufärben. Man geht dabei so vor, daß man dasselbe zunächst zur Entfernung des Kanadabalsams und Zedernöls mit Xylol behandelt, letzteres mit absolutem Alkohol entfernt, dann mit Wasser abspült, in 3%igem Salzsäurealkohol entfärbt und nach abermaliger Wasserabspülung nach *Gram* gefärbt.

Prostatasekret.

Das Prostatasekret wird durch Massage der Prostata nach vorangegangener Ausspülung der vorderen Harnröhre zur Untersuchung gewonnen. Die Methodik derselben weicht von der bei Untersuchung des Harnröhrensekretes gebräuchlichen nicht ab.

IX. KAPITEL.

Untersuchung des Blutes.

1. Bestimmung des spezifischen Gewichts.

Methode von *Hammerschlag*. Ein Gemisch von Chloroform (spez. Gew. 1·527) und Benzol (spez. Gew. 0·880) im Verhältnis von etwa 2 : 5·5 bringt man in ein 100 cm^3 fassendes trockenes Zylinderglas. Das Gemisch soll ein spezifisches Gewicht von etwa 1·050—1·055 haben und das Zylinderglas bis zu $^3/_4$ seines Volumens füllen. Man bringt schnell einen mittelgroßen, aus der Fingerbeere ausfließenden Blutstropfen in die Flüssigkeit. Bei dem Einbringen des Tropfens und den folgenden Manipulationen soll das Zerreißen des Tropfens in kleinere Teile möglichst verhütet werden. Sinkt der Blutstropfen in der Benzol-Chloroformmischung zu Boden, so ist das spezifische Gewicht der Flüssigkeit geringer als das des Blutes; man gibt alsdann einige Tropfen Chloroform zu, vermischt durch vorsichtiges Neigen des Zylinders beide Flüssigkeiten, wobei man mit der Hohlhand die Öffnung des Zylinderglases verschließt. Bleibt jetzt der Tropfen an der Oberfläche, so muß ein Tropfen Benzol zugefügt und die Flüssigkeit wiederum durchgemischt werden. Der Zusatz von Chloroform resp. Benzol wird so lange fortgesetzt, bis der Tropfen in der Flüssigkeit einen festen Stand einnimmt, so daß er weder steigt noch fällt; dann haben das Benzol-Chloroformgemisch und der Blutstropfen dasselbe spezifische Gewicht. Man bestimmt jetzt mittelst eines Aräometers das spezifische Gewicht der Flüssigkeit. Das Benzol-Chloroformgemisch wird durch einen trockenen Filter abfiltriert und kann für spätere Untersuchungen benutzt werden. Das spezifische Gewicht des normalen Blutes beträgt 1·055—1·060.

2. Die Gefrierpunktsbestimmung des Blutes.

Die Bestimmung des Gefrierpunkts wird am bequemsten mit dem Blutserum ausgeführt. Da für jede Bestimmung min-

destens zirka 10 cm^3 Serum erforderlich sind, so muß das Blut durch Venäsektion oder mittelst eines Schröpfkopfes gewonnen werden. Die Ausführung geschieht in derselben Weise wie bei der Gefrierpunktsbestimmung des Harns (cf. Seite 117).

3. Bestimmung des Hämoglobingehalts.

Der Hämoglobingehalt kann entweder durch die Messung der Färbekraft des Blutes oder durch Bestimmung seines Eisengehalts ermittelt werden. Da zur Ausführung einer genauen Eisenbestimmung größere Mengen Blut erforderlich sind und die Bestimmung zeitraubend ist, so benutzt man für klinisch praktische Zwecke nur die Methoden zur Bestimmung der Färbeintensität des Blutes, da dieselben mit ganz geringen Blutmengen schnell den Hämoglobingehalt des Blutes zu bestimmen ermöglichen. Von den verschiedenen Apparaten, welche zur Hämoglobinbestimmung vorgeschlagen sind, können für klinische Zwecke folgende zwei empfohlen werden:

a) Das Hämoglobinometer von *Gowers* in der Modifikation von *Sahli*. Das Instrument besteht aus zwei Glasröhren von genau gleicher Weite, von denen die eine mit einer Lösung von salzsaurem Hämatin zu $^3/_4$ gefüllt und von beiden Seiten zugeschmolzen ist. Die zweite ist nur unten zugeschmolzen, trägt eine Skala mit Teilungen von 10 bis 120 und dient zur Aufnahme des zu untersuchenden Blutes. Beide Röhrchen sind in einen schwarzen Rahmen mit weißer Rückwand eingesetzt, wodurch die Farbenverschiedenheiten deutlich zu erkennen sind. Außerdem sind dem Apparate noch beigegeben: 1. eine Kapillarpipette zur Abmessung von 20 mm^3, 2. eine Tropfpipette zur Verdünnung des Blutes, 3. ein Gefäß für verdünnte Salzsäure.

Die Ausführung der Bestimmung geschieht folgenderweise: Man bringt zunächst in das graduierte Röhrchen einige Tropfen (bis zur Teilung 10 oder 20) einer verdünnten Salzsäurelösung (0·2 %). Jetzt füllt man die Kapillarpipette durch Ansaugen mit Blut bis zur Marke und bringt alsdann das Blut durch Ausblasen rasch auf den Boden des Salzsäure enthaltenden Röhrchens. Man schüttelt das Röhrchen tüchtig um, wobei die Farbe des Blutes sich durch Bildung von

salzsaurem Hämatin verändert. Es entsteht eine dunkelbraune Flüssigkeit, welche bei Verdünnung mit destilliertem Wasser die Farbe der Testflüssigkeit im zugeschmolzenen Röhrchen annimmt. Die Verdünnung mit destilliertem Wasser muß vorsichtig, tropfenweise ausgeführt werden. Der Stand der Flüssigkeitssäule im Röhrchen gibt die Menge des Hämoglobins in Prozenten des normalen an. Die Bestimmung wird am besten bei Tageslicht ausgeführt und gibt für die Praxis gut brauchbare Resultate.

b) Die Hämoglobinskala von *Tallquist* besteht aus einer empirisch hergestellten Skala von Farben, welche Nuancen des Blutrotes bei verschiedenem Hämoglobingehalt darstellen. Der Farbenskala ist ein Buch mit Filtrierpapierblättchen beigegeben. Die Bestimmung des Hämoglobingehalts mit dieser Skala ist sehr einfach und bequem: Man läßt den aus der Fingerkuppe oder dem Ohrläppchen ausquellenden Blutstropfen sich auf einem Blättchen Filtrierpapier spontan verteilen und eintrocknen. Man vergleicht alsdann seine Färbung mit der Skala und findet auf der letzteren, welchem Hämoglobingehalt diese Färbung entspricht. Die Methode ist zwar nicht sehr genau (Fehlergrenzen 10—20%), aber dafür sehr einfach und schnell ausführbar. *Grawitz* empfiehlt, den eingetrockneten runden Blutfleck mit einer Schere auszuschneiden und direkt auf die Farbenskala zu legen. Die Vergleichung der Farben wird dadurch genauer.

4. Zählung der Blutkörperchen.

Die Zählung der roten und weißen Blutkörperchen wird mit dem Zählapparat von *Thoma-Zeiss* ausgeführt. Derselbe besteht aus zwei Mischpipetten und einer Zählkammer. Die Mischpipetten sind Kapillarröhrchen von etwa 10 *cm* Länge und sind in der oberen Hälfte zu einem ovoiden Raum erweitert; in dem letzteren befindet sich eine frei bewegliche Glasperle. Am Kapillarröhrchen sind Marken 0·5 und 1 unter der ovoiden Erweiterung und 101 resp. 11 über derselben angebracht. Die Mischpipette, auf welcher sich die Marke 101 befindet, wird zur Zählung der roten,

die Pipette mit der Marke 11 zur Zählung der weißen Blutkörperchen benutzt.

Die Zählkammer besteht aus einem Objektträger, auf welchem ein Glasrahmen mit einem kreisförmigen Ausschnitt aufgekittet ist; in der Mitte des Ausschnittes befindet sich ein rundes Glastischchen, das auf seiner Oberfläche ein Netz kleinerer und größerer Quadrate trägt. Der äußere Rahmen überragt die Oberfläche des Glastischchens genau um 0·1 *mm*, so daß, wenn man auf den äußeren Rahmen ein Deckglas bringt, der Abstand zwischen der unteren Fläche des Deckglases und der oberen Fläche des Glastischchens genau 0·1 *mm* beträgt.

Die Zählung der roten Blutkörperchen wird folgenderweise ausgeführt: Man saugt mit der entsprechenden Mischpipette Blut bis zur Marke 0·5 oder 1 auf, entfernt mit dem Finger etwaiges Blut von dem Ende der Mischpipette und saugt darauf von einer 3%igen Kochsalzlösung bis zur Marke 101. Es muß dabei darauf geachtet werden, daß kein einziges Gasbläschen in die Mischpipette gelangt. Durch leichtes Schütteln wird das Blut in der ovoiden Erweiterung gut verteilt. Jetzt werden 3—4 Tropfen aus der Pipette ausgeblasen und dann ein Tropfen von mittlerer Größe auf das Glastischchen der Zählkammer gebracht. Der Tropfen wird unter Vermeidung von Luftblasen mit einem Deckglas zugedeckt, und zwar muß das Deckglas auf dem äußeren Rahmen so fest aufliegen, daß die *Newton*schen Ringe sichtbar sind. Die Zählkammer wird darauf mit ihrer Mitte unter dem Mikroskop so eingestellt (*Leitz*, Objekt. 5 oder 7), daß die netzförmigen Teilungen und die auf denselben liegenden roten Blutkörperchen deutlich zu erkennen sind.

Das Netzwerk des *Thoma-Zeiss*schen Apparates besteht aus 16 großen, dreifach konturierten Quadraten. Jedes große Quadrat ist durch einfache Linien in 16 kleine eingeteilt. Beim Zählen der Blutkörperchen empfiehlt es sich, ein großes Quadrat einzustellen und die Blutkörperchen in jedem kleinen Quadrate zusammenzuzählen und zu notieren; dabei werden nur diejenigen Zellen, welche innerhalb des Quadrates und auf der oberen und linken Kante liegen, berücksichtigt. Man

zählt 5 große Quadrate = 5 × 16 = 80 kleinen. Die Berechnung geschieht auf Grund folgender Betrachtung.

Die Seitenlänge eines jeden kleinen Quadrates beträgt $^1/_{20}$ *mm*, seine Fläche demnach $^1/_{20} \times {}^1/_{20} = {}^1/_{400}$ *mm*². Da die Höhe der Blutschicht $^1/_{10}$ *mm* beträgt, so wird das Volumen der Blutschicht, welches einem kleinen Quadrat entspricht, $^1/_{400} \times {}^1/_{10} = {}^1/_{4000}$ *mm*³ sein.

Die Zahl der Blutkörperchen in einem Kubikmillimeter Blut ergibt sich aus der Formel:

$$x = \frac{m.n.4000}{q},$$

in welcher m die Zahl der zusammengezählten roten Blutkörperchen, n die Zahl der Verdünnung des Blutes und q die Zahl der gezählten kleinen Quadrate bedeutet.

Die Zählung der Leukocyten geschieht in derselben Weise mit folgenden Abänderungen:

1. Anstatt der Mischpipette mit Marke 101 nimmt man die Pipette mit Marke 11. (Letztere gestattet eine Verdünnung 1 : 10 oder 1 : 20.)

2. Als Verdünnungsflüssigkeit benutzt man eine schwache Essigsäurelösung (0·3—0·5%), in welcher die roten Blutkörperchen aufgelöst und die weißen daher leicht erkennbar und zählbar werden.

3. Wegen der geringen Anzahl Leukozyten in jedem Gesichtsfelde empfiehlt es sich, eine große Zahl von Quadraten zusammenzuzählen. Zu diesem Zwecke ist am besten die von *Türck* vorgeschlagene Modifikation der *Thoma-Zeiss*schen Zählkammer geeignet. Sie enthält außer den 16 großen Quadraten noch eine große Anzahl Quadrate von derselben Größe, welche aber nicht in kleine eingeteilt sind. Sie ermöglicht daher eine viel größere Menge Leukozyten zu zählen. Man soll bei jeder einzelnen Zählung mindestens 100—150 Leukozyten zusammenzählen. Zur Erlangung richtiger Zahlenwerte bei der Zählung der Blutkörperchen ist eine gewisse Übung und große Exaktheit in der Ausführung aller Einzelheiten unbedingt erforderlich. Die Zählkammer und die Mischpipetten dürfen nur in sauberem und vollkommen trockenem Zustande benutzt werden. Nach

jeder Zählung spült man die Mischpipetten zuerst mit einer 1%igen Natronlaugelösung, dann mit Wasser, darauf mit Alkohol und schließlich mit Äther durch.

5. Die histologische Untersuchung.

A. Die Untersuchung des frischen Präparates.

Zur histologischen Blutuntersuchung müssen stets spiegelblanke, mit Alkohol und Äther gereinigte Deckgläser und Objektträger benutzt werden. Man hebt die Kuppe eines kleinen ausquellenden Bluttropfens mit dem Deckglase ab und legt es ohne jeden Druck oder Verschiebung auf den Objektträger. Das Blut breitet sich von selbst in einer sehr dünnen Schicht aus. Ist das Präparat richtig angefertigt, so sind in den mittleren Teilen des Präparates die Zellen einzeln nebeneinander gelagert und die Geldrollenbildung tritt nur in der Peripherie deutlich hervor. Bei der Untersuchung des frischen Präparates soll folgendes berücksichtigt werden:

1. Die Intensität der Färbung der roten Blutkörperchen und der Geldrollenbildung.
2. Morphologische Veränderungen der roten Blutkörperchen (Poikilozytose, Anwesenheit von kernhaltigen Erythrozyten).
3. Vermehrung der Zahl und Veränderungen der Struktur der Leukozyten.
4. Anwesenheit größerer Spaltpilze (Rekurrens-Spirillen).

B. Die Untersuchung des gefärbten Präparates.

a) Das Ausstreichen. Ein dünnes Deckglas (von 0·1 *mm* Dicke) wird mit einer Seite in die *Ehrlich*sche Blutpinzette gespannt, ein anderes Deckglas mit einer gewöhnlichen Pinzette gefaßt und mit seiner Mitte an das kleine hervorquellende Bluttröpfchen gebracht. Das Deckglas mit dem Bluttropfen wird alsdann schnell, ohne einen Druck auszuüben, auf das eingespannte gelegt, wobei sich das Blut in kapillarer Schicht ausbreitet. Man faßt jetzt das obere Deck-

glas mit Daumen und Zeigefinger der rechten Hand an den Rändern und zieht es von dem unteren ab. Die Deckgläser werden dann mit der bestrichenen Seite nach oben hingelegt. Die am besten ausgestrichenen Stellen des Präparates zeigen beim Hinaufsehen unter einem spitzen Winkel Spektralfarben.

b) Das Fixieren. Von den flüssigen Fixierungsmitteln sind für die Blutpräparate am besten absoluter Alkohol, Alkohol und Äther oder Formollösungen geeignet. In Alkohol, Alkohol-Äther (ana) läßt man die Präparate von 5 Minuten bis 24 Stunden liegen. Formalin (1%ige alkoholische Formollösungen) fixiert in 2—3 Minuten. Die besten Trockenpräparate erhält man jedoch bei der Fixation durch Hitze, welche nach der älteren *Ehrlich*schen Vorschrift auf einer erwärmten

Fig. 62.

Kupferplatte bei einer Temperatur von 100—130° C geschieht. Es sind auch besondere Kästen zur Hitzefixierung nach *Ehrlichs* Angaben konstruiert. Da aber die Fixation auf der *Ehrlich*schen Kupferplatte und mit den speziellen Kästen zu zeitraubend und daher für den alltäglichen Gebrauch des praktischen Arztes wenig geeignet ist, so hat einer von uns* das Verfahren bedeutend verkürzt. Die ausgestrichenen Präparate werden (mit der Blutschicht nach oben) auf einen niedrigen, hohlen Zylinder aus Kupferblech gelegt. In die Vertiefung, welche sich auf der oberen Fläche des Zylinders befindet, bringt man ein Harnstoffkristall. Man faßt jetzt den Handgriff, mit welchem der Zylinder versehen ist, und erhitzt die Mitte der unteren Fläche des Zylinders über einem

* Dr. *A. Kowarsky*, Berliner klin. Wochenschr., 1903, Nr. 10.

Bunsenbrenner oder einer Spirituslampe so, daß die Spitze der Flamme den Zylinder kaum berührt. Das Erwärmen wird so lange fortgesetzt, bis das Harnstoffkristall zu schmelzen beginnt. Das geschieht bei einer Temperatur von 132 bis 135° C. Man stellt dann den Zylinder mit den Präparaten beiseite und wartet, bis der Apparat abgekühlt ist. Die ganze Prozedur der Fixation dauert 2—3 Minuten (Fig. 62).

c) Das Färben. 1. Triacidfärbung. Die Triacidmischung hat nach *Ehrlich* folgende Zusammensetzung:

Gesätt. wässerige Orange G-Lösung . .	13·0—14·0 *cm*³
„ „ Säure-Fuchsinlösung .	6·0—7·0 „
Aqua destillata	15·0 „
Alkohol	15·0 „
Gesätt. wässerige Methylgrünlösung .	12·5 „
Alkohol	10·0 „
Glyzerin	10·0 „

Die Stoffe werden in der vorgeschriebenen Reihenfolge in demselben Meßzylinder abgemessen und durchgeschüttelt. Es empfiehlt sich, den Farbstoff vor dem Gebrauch zu filtrieren. Man färbt 5—10 Minuten.

2. Färbung mit Eosin und Methylenblau.

Man färbt zunächst mit einer Eosinlösung von 0·75 Eosin in 100 *cm*³ 75%igem Alkohol 2 Minuten und nach Abspülen mit Wasser eine halbe Minute mit *Löffler*scher Methylenblaulösung.

Nach *Engel* wird die Färbung mit Eosin und Methylenblau in folgender Weise ausgeführt:

1. 5 Minuten mit einer 1%igen Eosinlösung (1 *g* Eosin, 90·0 *cm*³ Wasser, Alkohol bis 100·0).

2. Wasserspülung.

3. ½ Minute mit einer konzentrierten wässerigen Methylenblaulösung.

3. Färbung und gleichzeitige Fixierung nach *May* und *Grünwald*.

Das färbende Prinzip des *May*- und *Grünwald*schen Farbstoffs besteht aus einer chemischen Verbindung von Eosin

und Methylenblau (eosinsaures Methylenblau). Bringt man eine 0·1 %ige wässerige Lösung von Eosin mit einer 0·1 %igen Lösung von Methylenblau (medicale Höchst) zusammen und läßt die Mischung längere Zeit stehen, so scheidet sich ein neuer Farbstoff aus. Man sammelt denselben auf einem Filter und wäscht so lange mit kaltem Wasser aus, bis das abfließende Wasser fast nicht mehr gefärbt ist. Aus dem auf diese Weise isolierten Farbstoff wird eine gesättigte methylalkoholische Lösung hergestellt. Dieselbe wird in ein weithalsiges Glasgefäß gegossen und zum Färben und Fixieren der Blutpräparate benutzt. Das frisch ausgestrichene, lufttrockene Deckglaspräparat wird mittelst einer Pinzette zwei Minuten in die Farblösung eingetaucht; es folgt sodann Wasserspülung in einem Becherglase, welches gewöhnliches Wasser mit Zusatz einiger Tropfen des *May-* und *Grünwald*schen Farbstoffs enthält. Die Abspülung wird so lange fortgesetzt, bis das Präparat einen hellrosaroten Farbenton angenommen hat.

C. Kurze Morphologie der Blutzellen.

Normale Blutzellen.

a) Normale rote Blutkörperchen (Normozyten) stellen kreisrunde Scheiben mit einer zentralen Vertiefung (Delle) dar; die Zellen sind kernlos und bestehen aus einem Stroma, welches das Hämoglobin enthält; ihre mittlere Größe ist 7—7·5 μ im Durchmesser. Bei der *Ehrlich*schen Färbung (Triacid) nehmen die normalen Erythrozyten, wenn die Präparate richtig (bei 135° C) fixiert sind, einen Orange-Farbenton an. Sind die Präparate bei einer niederen Temperatur fixiert, so werden die Zellen etwas mehr rot. Bei der gewöhnlichen Färbung mit Eosin und Methylenblau färben sie sich rot, mit dem *May-* und *Grünwald*schen Farbstoff hellrosarot. Im frischen Präparat zeigen sie einen stark gelben Farbenton.

b) Lymphozyten sind Zellen von der Größe der roten Blutkörperchen, zum Teil auch etwas größer, mit einem schmalen homogenen (nicht granulierten) Protoplasma und einem kugelrunden Kern, welcher fast die ganze Zelle aus-

füllt. Bei der Triacidfärbung erscheint der Kern grünlich- bis schwarzblau, das Protoplasma rosa. Mit Eosin-Methylenblau färben sich der Kern und das Protoplasma blau. Die Lymphozyten bilden etwa den vierten Teil aller normalen zirkulierenden Leukozyten.

c) Die großen Lymphozyten unterscheiden sich von den gewöhnlichen durch ihre Größe. Sie finden sich im Blute junger Kinder in der Norm bis zu 10%, bei gesunden Erwachsenen findet man sie sehr selten. Dagegen bilden sie einen häufigen Befund bei der akuten und lymphatischen Leukämie.

d) Die neutrophilen polynukleären Leukozyten sind zweimal so groß wie die Lymphozyten, besitzen mehrere Kerne oder einen polymorphen Kern. Sie bilden den Hauptbestandteil (zirka 75%) der normalen Leukozyten. Das Protoplasma enthält deutliche Granulationen. Die Granula sind meist sehr klein. Bei Färbung mit Triacid färbt sich der Kern grünlich- bis tiefblau, die Granula violett, das Protoplasma zwischen den Granulis schwach rosa. Bei zweizeitiger (zuerst Eosin, dann Methylenblau) Eosin-Methylenblau-Färbung erscheint der Kern blau, die Granula rot, das Zellprotoplasma bleibt farblos.

e) Acidophile oder eosinophile Leukozyten sind schon in ungefärbtem Zustande durch ihre groben, hellglänzenden, runden Granula im Protoplasma leicht zu erkennen. Wie ihre Bezeichnung zeigt, nehmen die Granula jeden sauren Farbstoff auf und färben sich daher bei der Triacid- und Eosin-Methylenblaufärbung sowie nach *May* und *Grünwald* tiefrot. Man unterscheidet zwei Arten der eosinophilen Zellen:

1. Polynukleäre oder normale Eosinophile bilden gewöhnlich 2—4% der gesamten Leukozyten des Blutes. Sie haben 2 oder 3 Kerne, die sich etwas schwächer färben als die der neutrophilen Leukozyten.

2. Mononukleäre Eosinophile finden sich nur bei pathologischen Verhältnissen im Blute.

f) Basophile Leukozyten oder Mastzellen. Das Protoplasma der Zellen enthält grobe Granula von der Größe der eosinophilen, die aber nicht immer so rund und von

gleicher Form sind. Diese Granula zeigen eine stark ausgesprochene Affinität zu basischen Farbstoffen (Methylenblau), sie färben sich daher mit Eosin-Methylenblau und nach *May* und *Grünwald* dunkelblau. Bei der Triacidfärbung bleiben die Granula ungefärbt.

Die Mastzellen sind ein- oder mehrkernig, von der Größe der neutrophilen Leukozyten, zuweilen auch kleiner. Sie finden sich im normalen Blute nur in sehr geringer Anzahl (0·5%). Am leichtesten findet man sie bei der Färbung nach *May* und *Grünwald*.

g) Die Blutplättchen stellen kleine (2—3 μ im Durchmesser), viereckige oder runde, farblose Gebilde dar. Sie sind oft in Häufchen gelagert und kommen im normalen Blute in großen Mengen vor. Sie stammen höchstwahrscheinlich aus den roten Blutkörperchen und werden als Produkte zerfallener Kernsubstanzen aufgefaßt. Sie sind basophil und färben sich mit Eosin-Methylenblau schwach blau, mit Triacid schwach rosa.

Abnorme und pathologische Blutzellen.

a) Abnorme und pathologische rote Blutkörperchen (Fig. 63).

1. Poikilozyten sind nicht kreisrund, sondern zeigen Birnen-, Spindel-, Hantel- oder Nierenformen. Sie werden als Teilstücke der normalen Erythrozyten angesehen und finden sich im Blute bei anämischen Zuständen.

2. Makro- und Mikrozyten. Erstere sind größer als die normalen Erythrozyten, haben oft keine Delle. Sie finden sich meist bei schweren Anämien. Die Mikrozyten sind kleiner als die normalen roten Blutkörperchen und werden meist im Blute zusammen mit den Poikilozyten gefunden.

3. Kernhaltige rote Blutkörperchen normaler Größe (Normoblasten). Der Kern ist kugelrund, meist exzentrisch gelagert und färbt sich sehr intensiv (tiefblau).

4. Große, kernhaltige rote Blutkörperchen (Megaloblasten). Sie sind von der Größe der Makrozyten, enthalten nicht selten 2 Kerne. Die kernhaltigen Erythrozyten (beide Formen) finden sich nur bei schweren Anämien.

5. Erythrozyten mit basophiler Granulation. Diese roten Blutkörperchen enthalten in ihrem Protoplasma Granula verschiedener Größe (von Stäubchengröße bis zu $^1/_4$ Kern), welche sich mit jedem basischen Farbstoff gut färben lassen. Sie erscheinen also bei allen Färbemethoden als blaue Körnchen. Sie werden von den meisten Autoren als Kernreste angesehen und werden bei deutlich ausgesprochenen anämischen Zuständen gefunden (Anämie nach Bleivergiftung).

6. Polychromatophile Erythrozyten. Als polychromatophil werden diejenigen roten Blutkörperchen bezeichnet, welche ihre normale Affinität zu sauren Farbstoffen in mehr oder minder starkem Grade eingebüßt haben und dagegen eine schwache Affinität zu basischen Farbstoffen zeigen. Sie färben sich demnach bei gleichzeitiger Färbung mit Eosin und Methylenblau anstatt hellrosarot bläulichrot oder violett. Man findet sie nie im normalen Blute, dagegen nicht selten bei verschiedenen anämischen Zuständen.

b) Pathologische Leukozytenformen.

1. Myelozyten oder einkernige neutrophile Leukozyten. Der kugelige Kern nimmt den größten Teil der Zelle ein; er ist gewöhnlich schwach gefärbt, bedeutend schwächer als die Kerne der multinukleären Leukozyten. Auch die neutrophilen Granula des Protoplasmas sind meist ziemlich schwach gefärbt. Diese Zellen bilden den Hauptbestandteil der Zellen des Knochenmarks. Man findet sie in großer Anzahl im Blute bei myelogenen Leukämien, zuweilen auch bei schweren Anämien der Kinder. Sie werden als die Ursprungszellen der normalen polynukleären neutrophilen Leukozyten angesehen.

2. Eosinophile Markzellen sind mononukleäre eosinophile Leukozyten. Sie sind meist größer als die polynukleären eosinophilen Zellen und haben einen etwas kleineren Kern als die Myelozyten. Man begegnet ihnen zusammen mit den letzteren bei Leukämien.

3. Granulationslose Markzellen. Dieselben sind sehr große, zarte Zellen mit homogenem Protoplasma. Der Kern sowie das Protoplasma färben sich sehr schwach. (Das Protoplasma nimmt einen schwach basophilen Farbenton an.) Zuweilen

findet man im Protoplasma eine Andeutung von neutrophilen Granulationen, so daß diese Leukozyten als Übergangsformen zu den Myelozyten angesehen werden können. Sie finden sich im Blute bei myelogener Leukämie.

6. Bakteriologische Untersuchung des Blutes.

I. Untersuchung des Blutes im gefärbten Ausstrichpräparat.

Die Untersuchung des Blutes im gefärbten Ausstrichpräparate kommt hauptsächlich in Betracht, wenn es sich um die Diagnose Malaria und Febris recurrens handelt.

a) Malaria.

Zu diagnostischen Untersuchungen auf Malariaparasiten wird das Blut am besten während des Abfalls des Fiebers oder unmittelbar nach demselben entnommen. Mehrere Tage vor der Untersuchung darf der Patient kein Chinin genommen haben.

Das Blut wird durch Einstich mit einer ausgeglühten Nadel in die mit Alkohol und Äther gereinigte Fingerbeere oder das Ohrläppchen gewonnen. In den spontan hervorquellenden Blutstropfen taucht man eine Kante eines vollkommen sauberen Deckglases und setzt dasselbe mit dieser Kante auf ein zweites Deckglas oder einen Objektträger in einem nach rechts offenen Winkel von 45° auf. Das Blut breitet sich dann an der Kante des Deckglases entlang aus, und dieses wird nun von rechts nach links über den Objektträger hinweggeführt. Auf diese Weise wird das Blut ohne jeden Druck in dünner Schicht ausgebreitet.

Nachdem das Präparat an der Luft getrocknet ist, wird es 3 Minuten lang in einer Mischung von Alkohol und Äther $\overline{aa}$ fixiert.

Zur Färbung für diagnostische Zwecke bedient man sich am besten der *Manson*schen Borax-Methylenblaulösung (cf. Seite 276).

Die Stammlösung muß vor dem Gebrauch soweit verdünnt werden, daß sie, im Reagenzglase betrachtet, gerade durchsichtig ist. In diese verdünnte Farbflüssigkeit wird das

Präparat 5—10 Sekunden eingetaucht, in einem Glase mit Brunnenwasser so lange abgespült, bis es mattgrün gefärbt erscheint, zwischen Fließpapier getrocknet und mit Ölimmersion untersucht. In einem solchen Präparate sind die orthochromatisch gefärbten roten Blutkörperchen grün, die metachromatisch gefärbten graublau, die Kerne der weißen Blutkörperchen und die Parasiten blau gefärbt. Die Blutplättchen sind mattgraublau und zeigen im Gegensatz zu den scharf begrenzten Parasiten verwaschene Ränder. Das Pigment der Parasiten ist gelb bis schwarzbraun.

Mit Hilfe der von *Romanowski* angegebenen Methode gelingt es, außer dem Plasma auch die Kernsubstanz, das Chromatin, der Malariaparasiten zu färben. Die ursprüngliche *Romanowski*sche Färbung ist vielfach modifiziert worden; in letzter Zeit hat *Giemsa* eine einfache Methode angegeben (cf. Seite 276).

Das in einem Blockschälchen liegende Präparat wird mit der Farbmischung übergossen. Da die Dauer der Färbung zwischen 10 Minuten und mehreren Stunden schwankt, muß man sie unter dem Mikroskop kontrollieren, indem man die Präparate in Wasser betrachtet. Die Parasiten erscheinen blau mit leuchtend rotem Chromatinkorn, die roten Blutkörperchen rot, die Kerne der weißen lila bis dunkelviolett.

Die Erreger der Malaria sind einzellige, zu den Protozoen gehörende Lebewesen, welche einen doppelten Entwicklungsgang durchmachen, einen asexuellen als Zellschmarotzer in den roten Blutkörperchen des Menschen und einen geschlechtlichen in der Stechmücke Anopheles. Sie zerfallen in zwei Gattungen, die großen Parasiten, zu welchen der Erreger der Febris tertiana und quartana gehören, und die kleinen oder ringförmigen Tropenfieberparasiten. Von dem Entwicklungsgang der Parasiten hängt der Fiebertypus ab, den die einzelnen Malariaformen aufweisen. Der Parasit der Febris tertiana bedarf 2 × 24 Stunden, der der Febris quartana 3 × 24 Stunden, der Tropicaparasit 24—48 Stunden zu seiner Entwicklung. Der Infizierte ist fieberfrei, solange die Parasiten heranwachsen; erst nach Vollendung ihrer Entwicklung, mit dem Erscheinen der sogenannten Teilungsformen setzt der Fieberanfall ein. Die Febris quotidiana wird nicht durch einen besonderen Parasiten erzeugt, sondern ist entweder eine Tertiana duplex oder Quartana triplex.

Tertianaparasit (Fig. 64 u. 65). Ist das Blut auf der Fieberhöhe oder im Fieberabfall entnommen, so findet man in den nach *Manson* gefärbten Präparaten auf den grün gefärbten roten Blutkörperchen die jüngsten Parasiten in Form kleiner, blauer, eiförmiger Gebilde, welche schon deutlich die Ringform erkennen lassen, ferner kleine blaue Ringe, welche an einer Seite eine mondsichelförmige Verdickung, an der gegenüberliegenden, haarfeinen Ringhälfte eine knopfförmige Anschwellung erkennen lassen (kleiner Tertianaparasit, Siegelringform). 24 Stunden später sieht man, daß die Parasiten sich erheblich vergrößert haben, sie sind ungefähr doppelt so groß wie die kleinen Tertianaringe, ein Teil zeigt noch deutliche Ringform (große Tertianaringe), ein anderer Teil (große Parasiten) hat bereits die Ringform verloren und erscheint in Form blauer, bald rundlich, bald unregelmäßig gestalteter Scheiben. Sowohl die großen Tertianaringe als auch die großen Parasiten lassen in ihrem Innern ein gelb- oder schwarzbraunes Pigment erkennen. Auch die von den Parasiten befallenen roten Blutkörperchen haben sich vergrößert und sind abgeblaßt. Anfangs ist das Pigment unregelmäßig im Plasma des Parasiten verteilt. Wenige Stunden vor dem neuen Fieberanfall hat es sich im Zentrum des Parasiten angesammelt, und dieser selbst läßt in seinem Innern eine deutliche Differenzierung erkennen (Teilungsform). Schließlich zerfällt er in 15—25 kleine, runde oder eiförmige, blaue Körperchen (Sporen), aus welchen sich von neuem Parasiten entwickeln.

Neben diesen ungeschlechtlichen Formen (Schizonten) finden sich auch solche, welche der geschlechtlichen Entwicklung des Parasiten in der Mücke dienen (Gameten). Diese gleichen in Größe und Form den großen Parasiten, sie liegen entweder frei oder füllen das abgeblaßte und vergrößerte rote Blutkörperchen bis auf einen schmalen Saum aus. Von den ungeschlechtlichen Formen unterscheiden sie sich in folgender Weise: Ihre Färbung ist weniger intensiv (mattgraublau oder graugrün), am Rande oder in der Mitte findet sich eine vollkommen ungefärbte Zone, ferner lassen sie keine Differenzierung in ihrem Plasma erkennen, in welchem das Pigment

unregelmäßig verstreut liegt. Man unterscheidet männliche und weibliche Gameten, welche im gefärbten Präparat in Färbung und Pigmentierung Verschiedenheiten untereinander aufweisen.

Quartana-Parasit. Der Quartanaparasit ist in den ersten Stadien seiner Entwicklung vom Erreger der Tertiana nicht zu unterscheiden. In den Präparaten, welche im Fieberabfall entnommen sind, finden sich Ringe, die den kleinen Tertianaringen vollkommen gleichen. Aus diesen entwickeln sich die für den Quartanaparasiten charakteristischen Bandformen. Das rote Blutkörperchen, welches im Gegensatz zur Febris tertiana weder verblaßt noch sich vergrößert, ist von einem blauen, stark pigmentierten Band durchzogen, das sich allmählich vergrößert, quadratisch wird und das Blutkörperchen schließlich vollkommen ausfüllt. Der Quartanaparasit zerfällt, nachdem das Pigment sich an einem Punkt angesammelt hat, in 6 bis 14 Sporen. Auch hier treten neben den ungeschlechtlichen geschlechtliche Formen auf, welche in ihrem Aussehen denen der Tertianaparasiten gleichen.

Tropenfieberparasit (Fig. 66). Im Fieberanstieg werden besonders bei Ersterkrankungen überhaupt keine Parasiten oder nur sehr vereinzelte blaue Ringe gefunden, die sehr viel winziger als die kleinen Tertianaringe sind und eine sichelförmige Verdickung an ihrer Peripherie nicht erkennen lassen (kleine Tropenringe). Kurz nach dem Fieberabfall haben diese Parasiten die Größe der kleinen Tertianaringe erreicht, mit denen sie auch in ihrem Aussehen vollkommen übereinstimmen (große Tropenringe). Die weitere Entwicklung geht im Gegensatz zu den anderen Malariaformen nicht im kreisenden Blute sondern in den inneren Organen (Milz, Gehirn, Knochenmark) vor sich, so daß in den aus dem Blute entnommenen Präparaten Teilungsformen nicht sichtbar sind. Charakteristisch für den Erreger der Tropica ist das Aussehen der Gameten, welche die Gestalt von Halbmonden besitzen. Ihre Färbung ist an den Polen intensiver als im Zentrum, in welchem sich das Pigment kranzartig angeordnet findet.

Die Differentialdiagnose zwischen den einzelnen Malariaformen ist häufig nur dann mit Sicherheit zu stellen,

wenn neben der mikroskopischen Untersuchung sorgfältige Fiebermessungen einhergehen. Dieselben müssen in zweifelhaften Fällen dreistündlich — auch während der Nacht — vorgenommen werden. Die Tertiana ist charakterisiert durch die großen pigmentierten Ringe und durch die Vergrößerung der Blutkörperchen, die Quartana durch die Bandformen und das Fehlen vergrößerter Erythrozyten, die Tropica durch die Halbmonde. Finden sich nur Parasiten in Form kleiner Ringe, so ist aus dem mikroskopischen Präparat allein die Differentialdiagnose nicht zu stellen, da die kleinen Tertiana- und Quartanaringe in ihrem Aussehen übereinstimmen und auch den großen Tropicaringen gleichen.

Ferner ist das Vorkommen von Mischinfektionen zu beachten sowie die Veränderung des Aussehens der einzelnen Formen durch Chiningaben vor dem Anfall (Chininformen).

b) Rekurrensspirillen (Fig. 67).

Zum Nachweis der Rekurrensspirillen muß das Blut während des Fieberanfalles entnommen werden, da die Krankheitserreger in der Regel erst einige Stunden vor dem Fieberanstieg im kreisenden Blute erscheinen.

Die Entnahme des Blutes und die Herstellung der Präparate geschieht in der gleichen Weise wie bei der Untersuchung des Blutes auf Malariaparasiten.

Die Färbung wird nach *Günther* in folgender Weise vorgenommen: Die sorgfältig, am besten im Thermostaten bei 75°, getrockneten Präparate werden mit 5% Essigsäure benetzt, wodurch das Hämoglobin entfernt und die Spirillen leichter sichtbar gemacht werden. Nach 10 Sekunden wird die Essigsäure abgeblasen, die lufttrockenen Präparate werden mit der bestrichenen Seite nach unten mehrere Sekunden über eine eben umgeschüttelte Flasche mit Ammoniak gehalten und mit *Ehrlich*scher Anilinwassergentianaviolettlösung einige Sekunden gefärbt.

Auch die Färbung nach *Romanowski* und Doppelfärbung mit Eosin und Methylenblau geben gute Resultate (gesättigte alkoholische Eosinlösung mehrere Stunden, gesättigte wässerige Methylenblaulösung 20—30 Minuten unter Erwärmen).

Im ungefärbten Präparat sind die Spirillen schwer sichtbar, ihre Anwesenheit macht sich dadurch bemerkbar, daß sie hin- und herschwirrend die roten Blutkörperchen stoßweise in Bewegung setzen. Kommt es nicht auf Feststellung der Beweglichkeit an, so kann man ihr Auffinden im ungefärbten Präparat erleichtern, wenn man vor dem Einstich einen Tropfen *Müller*scher Flüssigkeit auf die Fingerkuppe bringt, wodurch die Formelemente sofort fixiert werden.

Die von *Obermeyer* entdeckten Spirillen sind überaus bewegliche, sehr feine, spiralig gewundene und an den Enden zugespitzte Fädchen von 10—40 μ Länge und 1 μ Dicke. Sie liegen gewöhnlich einzeln oder in wenigen Exemplaren nebeneinander, nur selten kommt es zur Bildung von Knäueln.

II. Untersuchung des Blutes mit Hilfe des Kulturverfahrens.

1. Züchtung der Typhusbazillen.

Gewinnung des Blutes: Nach Desinfektion der äußeren Haut werden 10—20 cm^3 Blut durch Punktion aus der Vena mediana entnommen und sofort in mehrere je 50—100 cm^3 steriler Bouillon enthaltende *Erlenmeyer*sche Kölbchen verteilt. In jedes Kölbchen kommen 1 bis 2 cm^3 Blut. Die Übertragung des Blutes in die Bouillon muß sehr schnell geschehen, da es darauf ankommt, dasselbe in ausgiebiger Weise zu verdünnen, ehe es gerinnt und die bakteriziden Kräfte des Blutserums, denen die Typhusbazillen sehr schnell erliegen, zur Wirkung kommen können. Die mit dem Blut beschickten Kölbchen kommen auf 24 Stunden in den Brutschrank bei 37°; dann werden kleine Mengen von der Bouillon auf Agar überimpft. Die gezüchteten Kulturen werden in der schon geschilderten Weise identifiziert.

Schottmüller vermischt das durch Venenpunktion gewonnene Blut direkt mit verflüssigtem, auf 45° abgekühltem Agar, und zwar beschickt er 6 cm^3 Agar enthaltende Röhrchen mit 2—3 cm^3 Blut. Nach erfolgter Mischung wird der Inhalt der Röhrchen in Schalen gegossen. Die Kulturen werden bei einer Bruttemperatur von 37° gehalten und in den nächstfol-

genden Tagen regelmäßig kontrolliert. Die Typhuskolonien zeigen sich als tiefgrünschwarze Punkte im Innern des Nährbodens und wachsen allmählich bis zu Linsengröße heran. Noch größer entwickeln sich die Oberflächenkolonien, welche einen dunkelgrauen Farbenton zeigen. Bei 24stündigen Kulturen sind im allgemeinen nur sehr spärliche Kolonien zu erkennen; an zweitägigen Platten sind schon mehr Kolonien sichtbar und ihre Zahl wächst unter Umständen noch bis zum 5. und 6. Tage. Nach *Schottmüller* genügt das Aussehen der Kolonien und die Feststellung, daß dieselben aus beweglichen Stäbchen bestehen, zunächst völlig, um die Krankheit als eine typhöse zu charakterisieren.

Die Typhusbazillen finden sich während des ganzen Fieberverlaufs, oft schon in den ersten Krankheitstagen im Blut, besonders reichlich während der Eruptionszeit der Roseolen. In der fieberfreien Zeit dagegen gelingt ihr Nachweis nicht. Auch beim Abklingen des Fiebers bleibt die Untersuchung ergebnislos. Das Verfahren kann auch auf der Höhe des Fiebers versagen, wenn die Krankheit einen sehr milden Verlauf nimmt.

Die Züchtung der Typhusbazillen gelingt nicht nur aus dem kreisenden Blute sondern auch aus den Roseolaflecken, in deren Gewebssaft sie sich in sehr geringer Anzahl finden. Die Kulturen werden nach dem Vorgehen *Neufelds* in folgender Weise angelegt: Nach oberflächlicher Reinigung der Haut mit einer Mischung von Alkohol und Äther āā wird mit einem scharfen Skalpel ein seichter Einschnitt in eine Roseole gemacht, mit der Spitze desselben Messers etwas Gewebssaft aus der kleinen Wunde ausgekratzt und sofort in Bouillon abgespült. Der Einschnitt ist so oberflächlich zu machen, daß das Austreten von Blutstropfen möglichst vermieden wird, da die Typhusbazillen im Gewebssaft und nicht im Blute sich finden. Blutet es trotzdem aus der Wunde, so bringt man einige Tropfen Bouillon auf dieselbe, um das austretende Blut, mit dem die bazillenhaltige Gewebsflüssigkeit herausgespült wird, sofort zu verdünnen. Die mit Bouillon vermischten Blutstropfen werden gleichfalls möglichst schnell auf Bouillonröhrchen übertragen. Diese kommen auf 8 Stunden in den Brut-

schrank bei 37°; dann werden von ihnen Ausstriche auf Agar gemacht und am nächsten Tage die gezüchteten Bakterien durch Agglutination, Verimpfung auf Lackmusmolke etc. geprüft. In den Bouillonröhrchen finden sich neben den Typhusbazillen gewöhnlich nur Staphylokokken.

Es empfiehlt sich, die frisch aufgetretenen Roseolen zu untersuchen und stets gleichzeitig mehrere von ihnen in Angriff zu nehmen. Aus jedem Schnitt wird wiederholt Gewebssaft ausgekratzt und auf verschiedene Bouillonröhrchen übertragen.

Gute Resultate erzielte auch nach *Neufelds* Angabe *Schmiedicke*, der so vorging, daß er nach vorangegangener Reinigung die die Roseolen bedeckende Haut schichtweise abtrug und in Bouillon brachte.

Züchtung der Staphylokokken und Streptokokken.

Die Züchtung der Staphylokokken und Streptokokken aus dem zirkulierenden Blute wird in der gleichen Weise wie die Kultivierung der Typhusbazillen vorgenommen. Man braucht jedoch die Gerinnung des Blutes nicht so ängstlich zu vermeiden, da diese Infektionskeime in das Serum übergehen und von ihm in ihrer Entwicklung nicht gehemmt werden. Das Blut kann mittelst Venenpunktion oder blutigen Schröpfkopfes gewonnen werden.

III. Untersuchung des Blutes mit Hilfe des Tierversuchs.

Das Tierexperiment kommt vor allem in Frage, wenn es sich um den Nachweis von Milzbrand- und Pestbazillen im zirkulierenden Blute handelt.

Milzbrandbazillen. Als Versuchstiere dienen weiße Mäuse oder Meerschweinchen, denen das durch Venenpunktion gewonnene Blut in Mengen von 0·2—0·3 cm^3 bzw. 1·0 cm^3 subkutan injiziert wird. Enthält das Untersuchungsmaterial Milzbrandbazillen, so gehen die Tiere an Milzbrandseptikämie zugrunde und man kann die Bazillen im Blut und in den Organen mikroskopisch und kulturell nachweisen.

Zur Untersuchung von Pestbazillen wird das Blut auf Ratten oder Meerschweinchen verimpft.

Auch zum Nachweis von Streptokokken im Blute kann man den Tierversuch heranziehen. Derselbe liefert jedoch nicht so sichere Resultate als das Kulturverfahren, da Streptokokken, welche für Menschen hoch virulent sind, sich im Tierversuch als unwirksam erweisen können. Mithin würde der negative Ausfall desselben nicht gegen das Vorhandensein von Streptokokken im Blute sprechen. Als Versuchstier dient die weiße Maus, der 0·5—1·5 cm^3 Blut intraperitoneal eingespritzt werden. Enthält das Blut für Mäuse virulente Streptokokken, so gehen die Tiere an Streptokokkenseptikämie zugrunde.

IV. Serumdiagnostik.

Die Serumdiagnostik beruht auf der Tatsache, daß sich im Blute von Personen, welche an Infektionskrankheiten leiden oder gelitten haben, spezifische Reaktionsprodukte des erkrankten Organismus, Agglutinine und Bakteriolysine, nachweisen lassen. Diese Beobachtung hat vor allem für die Diagnose des Typhus abdominalis praktische Verwertung gefunden. Nachdem *Gruber* zuerst festgestellt hatte, daß das Blut von Typhusrekonvaleszenten eine agglutinierende Wirkung auf Typhusbazillen ausübt, wies bald darauf *Widal* nach, daß das Blutserum bereits im Verlaufe der Erkrankung, oft schon in ihrem ersten Stadium die spezifischen Agglutinine enthält.

Ausführung der Agglutinationsprobe (*Widal*sche Reaktion).

Das Blut wird am besten durch Venenpunktion oder blutigen Schröpfkopf gewonnen. Man entnimmt zirka 2 cm^3. Sind diese Methoden nicht anwendbar, so entzieht man dem Patienten das Blut durch Einstich in die Fingerbeere unf fängt es in einem kleinen Zentrifugenröhrchen auf. Nachdem das Blut geronnen ist, wird der Blutkuchen mit steriler Platinnadel von der Wand des Gefäßes abgelöst. Im Verlaufe mehrerer Stunden, während welcher das Blut im Eisschrank aufbewahrt wird, hat sich in der Regel genügend Serum abgesetzt. Dasselbe wird mittelst Pipette abgehoben, mit steriler 0·85% Kochsalzlösung zehnmal verdünnt (1 Teil Serum und 9 Teile Na Cl)

und eventuell zur vollständigen Klärung zentrifugiert. Hiervon werden weitere Serumverdünnungen im Verhältnis 1 : 20, 1 : 40, 1 : 50, 1 : 60 etc. hergestellt. In je einem Kubikzentimeter Verdünnung wird nach der Seite 98 geschilderten Methode 1 Öse einer 18—24stündigen Typhusagarkultur, deren Agglutinationstitre einem künstlichen Typhus-Immunserum gegenüber bekannt ist, sorgfältig verrieben. Die geimpften Röhrchen werden, wenn nicht sofort Agglutination eintritt, eine Stunde bei 37° gehalten und dann von neuem geprüft. Die Untersuchung auf Häufchenbildung erfolgt makroskopisch und wird in derselben Weise, wie es Seite 98 beschrieben ist, ausgeführt.

Es ist stets erforderlich, gleichzeitig Kontrollen mit der zum Verdünnen benutzten Kochsalzlösung und mit normalem menschlichem Serum anzustellen. Die Flüssigkeit in den Kontrollröhrchen muß während der Beobachtungsdauer gleichmäßig getrübt bleiben.

Es ist notwendig, das Serum stets auszutitrieren, d. h. zu bestimmen, bis zu welcher Verdünnung sein Agglutinationsvermögen reicht. Was die Beurteilung des Resultates dieser Probe anlangt, so ist zu berücksichtigen, daß Serum gesunder Menschen, die auch nachweislich keinen Typhus überstanden haben, agglutinierende Eigenschaften gegenüber Typhusbazillen besitzen kann. Erfahrungsgemäß ist dies jedoch nur in hohen Konzentrationen des Serums der Fall. Wird die Probe in der geschilderten Weise angestellt, so pflegt normales Serum in Verdünnungen, die über 1 : 50 liegen, nicht mehr Agglutination zu zeigen. Tritt daher spätestens nach einstündigem Verweilen der geimpften Röhrchen im Thermostaten bei 37° wenigstens in dem fünfzigfach verdünnten Serum makroskopisch deutlich erkennbare Häufchenbildung ein, während die Kontrollröhrchen (Bakterienaufschwemmung in Kochsalzlösung und in normalem, im Verhältnis 1 : 50 verdünntem Serum) homogen erscheinen, so läßt sich mit Wahrscheinlichkeit sagen, daß der Patient an Typhus abdominalis leidet oder vor kurzem gelitten hat.

In einem Bericht über den Ausfall der Agglutinationsprobe genügt es nicht, von positiver oder negativer Reaktion

zu sprechen, sondern es ist zweckmäßig, stets den Grenzwert der Agglutinationswirkung des Serums, seinen Titre und die Methode, nach welcher derselbe bestimmt wurde, anzugeben. Das letztere ist deswegen erforderlich, weil eine Reihe von Untersuchern den Eintritt der Agglutination nicht makroskopisch sondern mikroskopisch bei starker Vergrößerung feststellen und schon das Zusammentreten weniger Bazillen zu Häufchen als Ausdruck der Agglutinationswirkung betrachten. Diese Autoren müssen natürlich, um Irrtümer zu vermeiden, die untere Grenze der für die Diagnose verwertbaren Agglutination viel höher ansetzen (1 : 100), als dies bei makroskopischer Betrachtung notwendig ist.

Die diagnostische Bedeutung der *Vidal*schen Reaktion erfährt ferner dadurch eine Einschränkung, daß sie im Beginn der Erkrankung nur selten eintritt und in einer Reihe von Fällen während des ganzen Verlaufs fehlen kann. Meist gelingt der Nachweis der Agglutinine erst im Laufe der zweiten Krankheitswoche. Hieraus folgt, daß der negative Ausfall der Reaktion niemals gegen die Diagnose Typhus spricht.

Die Agglutinationsprobe vermag den direkten Nachweis des Krankheitserregers nicht zu ersetzen. Das Auftreten der Agglutinine im Blut ist lediglich als ein Symptom der Typhuserkrankung zu betrachten, sein Vorhandensein stützt die Diagnose, sein Fehlen erschüttert sie aber nicht.

In letzter Zeit hat *Ficker* die Ausführung der Agglutinationsprobe zu vereinfachen gesucht, um ihre Anstellung auch dem Praktiker, dem die Einrichtung eines Laboratoriums nicht zur Verfügung steht, zu ermöglichen. Sein Typhus-Diagnostikum, das die lebende Typhuskultur ersetzen soll, besteht aus einer Aufschwemmung abgetöter Typhusbazillen. Es stellt eine leicht getrübte, sterile Flüssigkeit dar, die dunkel und kühl aufbewahrt, lange gebrauchsfähig bleibt, wenn sie von Zeit zu Zeit geschüttelt wird. Insbesondere muß dies vor dem Ansetzen eines Versuchs geschehen.

„Die Ausführung der Reaktion geschieht in der Weise, daß man das zu prüfende Serum auf das Zehnfache mit steriler, 0·85%iger Kochsalzlösung verdünnt und mittelst gra-

duierter Pipette von dieser Serumverdünnung beispielsweise 0·2 und 0·1 *cm*³ in je ein Spitzgläschen 1 und 2 überträgt.

Zu Gläschen 1 wird dann 0·8 *cm*³, zu Gläschen 20·9 *cm*³ des Diagnostikums zugegeben. Ein weiteres Gläschen enthält 1 *cm*³ Diagnostikum ohne Serumzusatz (Kontrolle). Nach Aufsetzen von Kork- oder Gummipropfen auf die Gläschen wird gut gemischt. Dann läßt man die Gläschen bei Zimmertemperatur vor Licht geschützt stehen. Nach 10, 12 bis 14 Stunden ist das Resultat erkennbar; länger wie 20 Stunden darf mit der Feststellung des Resultats nicht gewartet werden. Man erleichtert sich die Beobachtung des Inhalts des Gläschen, wenn man sie vor einem schwarzen Hintergrund betrachtet oder zwischen Lichtquelle (Fenster) und Gläschen, die man in Augenhöhe bringt, die ausgestreckte Hand in 5 bis 10 *cm* Entfernung hinter die Gläschen hält. Die positive Agglutination gibt sich durch Klärung kund, wobei gleichzeitig infolge Verwendung der Spitzgläschen die Zusammenballung der agglutinablen Stoffe des Präparates besonders deutlich in die Erscheinung tritt."

Die zur Kontrolle angesetzte Probe, welche das Diagnostikum allein enthält, muß natürlich gleichmäßig getrübt bleiben.

Bei anderen Infektionskrankheiten wie Cholera, Pest ist die Agglutinationsprobe für die Frühdiagnose nicht verwertbar. Die Untersuchung des Blutes auf seinen Gehalt an bakteriolytischen Stoffen ist bisher in der Versuchsanordnung des sog. *Pfeifer*schen Versuchs (cf. Seite 104) zur Erkennung abgelaufener Typhus- und Cholerafälle benutzt worden.

Der Nachweis der spezifisch bakteriolytischen Stoffe kam für die Diagnose frischer Fälle bisher nicht in Betracht. *Stern** hat denselben in neuester Zeit für die Diagnose des Typhus herangezogen, jedoch entbehren seine Resultate noch der Nachprüfung an einem großen Krankenmaterial. Er prüfte das Serum der typhusverdächtigen Patienten mit Hilfe des bakteriziden Reagenzglasversuchs nach der von *Ehrlich* und seinen Schülern ausgearbeiteten Methode.

---

* Berliner klin. Wochenschr., 1904, Nr. 3.

Es wird festgestellt, welches die kleinste Dosis ist, in der das zu untersuchende Serum noch eine bakterzide Wirkung auszuüben vermag. Zu diesem Zwecke wird zu fallenden Mengen des inaktivierten Serums stets die gleiche Menge Typhusbazillen und normalen komplettierenden Serums zugesetzt.

Als Komplement benutzt *Stern* 0·5 cm^3 eines 10—15fach verdünnten frischen, normalen Kaninchenserums, zur Aussaat 0·5 cm^3 einer 5000fachen Verdünnung einer 24stündigen Typhusbouillonkultur. Die Sera werden mit 0·85% Kochsalzlösung, die Kultur mit Bouillon verdünnt.

Der Versuch wird in folgender Weise angestellt: Das zu untersuchende Serum wird durch halbstündiges Erwärmen im Wasserbade auf 55° inaktiviert und mit Hilfe steriler Pipetten von 1 cm^3 Inhalt in Mengen von 1·0, 0·3, 0·1, 0·03, 0·01 cm^3 etc. in eine Reihe Röhrchen gefüllt. Ist zu erwarten, daß das Serum ein hochwertiges ist, so geht man sofort von einer 50- bis 100fachen Verdünnung desselben aus. Ferner kommt in alle Röhrchen 0·5 cm^3 des 12fach verdünnten frischen Kaninchenserums und 0·5 cm^3 $^1/_{5000}$ Typhusbouillonkultur. Dann werden alle Röhrchen mit 0·85% Kochsalzlösung auf das gleiche Niveau, 2 cm^3, aufgefüllt.

Es ist notwendig, folgende Kontrollen anzulegen:

Zwei Kontrollen der Aussaat (I und II), welche je 1·5 Na Cl + 0·5 cm^3 $^1/_{5000}$ Typhusbouillonkultur enthalten.

Von Kontrolle I wird sofort, von Kontrolle II nach 3stündigem Verweilen bei 37° eine Platte gegossen.

Kontrolle III und IV stellen die Unwirksamkeit der maximal verwendeten Dosis des inaktivierten Immunserums und des komplettierenden Serums allein fest.

Kontrolle III. 1·0 inaktiviertes Immunserum + 0·5 cm^3 $^1/_{5000}$ Typhuskultur + 0·5 cm^3 Na Cl.

Kontrolle IV. 0·5 Kaninchenserum + 0·5 cm^3 $^1/_{5000}$ Typhuskultur + 0·5 cm^3 Na Cl.

Kontrolle V und VI prüfen die maximal angewandten Mengen der beiden Sera auf Sterilität.

Kontrolle V. 1·0 cm^3 inakt. Immunserum + 1·0 cm^3 Na Cl.

Kontrolle VI. 0·5 cm^3 Kaninchenserum + 1·5 cm^3 Na Cl.

Alle Röhrchen mit Ausnahme von Kontrolle I kommen, nachdem sie vorher umgeschüttelt sind, auf 3 Stunden in den Brutschrank bei 37°.

Nach dieser Zeit erfolgt wieder Umschütteln und die Verarbeitung zu Agarplatten, indem der Inhalt der Röhrchen mit aufgeschmolzenem, auf 42° abgekühltem Agar vermischt und in Petrischalen ausgegossen wird. Die Platten kommen „verkehrt" in den Brutschrank und verbleiben darin bis zum nächsten Tage, an dem festgestellt wird, wieviel Kolonien auf den einzelnen Platten zur Entwicklung gekommen sind. Die Beurteilung der Platten erfolgt schätzungsweise nach folgendem Schema: 0 oder fast 0, etwa 100, einige Hundert, Tausende, sehr viele Tausende, unendlich viel Kolonien.

Bei Besichtigung der Platten fällt auf, daß die Platten mit den größten Mengen Immunserums die meisten Kolonien aufweisen. Dieses Verhalten beruht auf Komplementablenkung durch überschüssige Immunkörper.

Eine deutliche bakterielle Wirkung liegt nur dann vor, wenn die Kontrollen sinngemäß ausfallen und wenn eine Reduktion der Kolonien von unendlich oder vielen Tausenden auf 0 oder auf ganz wenige Keime stattgefunden hat.

Ferner ist der Versuch auch nur dann gut ausgefallen, wenn man die untere Grenze der wirksamen Serumverdünnung erreicht hat, wenn also die letzten Platten wieder zunehmende Kolonienzahl aufweisen *(Neisser)*.

X. KAPITEL.

Untersuchung der Punktionsflüssigkeiten.

A. Allgemeine Eigenschaften und chemische Untersuchung.

1. Transsudate sind hellgelb mit grünlicher Nuance, meist durchsichtig, reagieren alkalisch und setzen beim Stehen ein meist geringes gallertiges oder häutiges Fibringerinnsel ab. Die Ausscheidung des Gerinnsels kann durch Zusatz von

etwas Blut beschleunigt werden; gewöhnlich geschieht diese minimale Blutbeimischung schon bei der Punktion.

Das spezifische Gewicht der Transsudate ist verhältnismäßig gering und wechselt mit dem Transsudationsorte. Nach den Untersuchungen von *Reuss* schwankt das spezifische Gewicht der Transsudate zwischen 1015 und 1005; die höchsten spezifischen Gewichte (bis 1015) findet man bei Hydrothorax, die niedrigsten bei Hydrocephalus.

Auch der Eiweißgehalt der Transsudate ist im Vergleich mit der Eiweißmenge der Exsudate gering und übersteigt nie 2·5%.

2. Exsudate zeigen größere Verschiedenheiten; man unterscheidet: seröse, blutige, eitrige und jauchige Exsudate. Dementsprechend erscheint die Farbe, Durchsichtigkeit und Konsistenz dieser Produkte der Entzündung auch verschieden. Das spezifische Gewicht liegt bei allen über 1018; der Eiweißgehalt sinkt nie unter 2·5%.

Indessen sind die Unterschiede im spezifischen Gewicht und Eiweißgehalt nicht so konstant, daß daraufhin eine scharfe Trennung zwischen Exsudaten und Transsudaten in jedem einzelnen Falle möglich wäre: Man findet gar nicht selten Transsudate, die mit ihrem Eiweißgehalt die niederste Grenze des Eiweißgehaltes der Exsudate überschreiten und umgekehrt. In der letzten Zeit wurde behauptet, daß die Exsudate sich von den Transsudaten durch Gehalt eines durch Essigsäure fällbaren Eiweißkörpers (Serosomucin nach *Umber*) unterscheiden. Die Anwesenheit dieses Eiweißkörpers wird dadurch erkannt, daß die durch Filtrieren geklärte Flüssigkeit, nachdem sie mit Essigsäure bis zur deutlich sauren Reaktion versetzt ist, eine deutliche Trübung oder Fällung zeigt.

3. Ovarialcysten. Der Inhalt der Eierstockscysten ist meist von zähflüssiger, schleimartiger Konsistenz, hellgelb, mitunter auch schmutzigbraun oder gelbgrün gefärbt. Das spezifische Gewicht zeigt große Schwankungen (zwischen 1005 und 1050). Charakteristisch für den Inhalt der Ovarialcysten ist die Anwesenheit eigenartiger Eiweißsubstanzen, von welchen das Pseudomucin (auch Paralbumin oder Metalbumin genannt) am häufigsten gefunden wird. Pseudomucin wird weder durch

Essigsäure und Salpetersäure noch durch Kochen, wohl aber durch Alkohol gefällt und dadurch unterscheidet es sich wesentlich von Mucin und Albumin. Die gewöhnlichen Eiweißarten (Albumin, Globulin) finden sich auch in wechselnden Mengen in der Ovarialcystenflüssigkeit.

Der Nachweis von Pseudomucin wird folgenderweise ausgeführt: 1. 25 cm^3 Flüssigkeit versetzt man mit einigen Tropfen alkoholischer Rosolsäurelösung, erhitzt zum Sieden und läßt stark verdünnte (Zehntelnormal-) Schwefelsäure zutropfen, bis der Farbenumschlag nach gelb hin anzeigt, daß die Flüssigkeit schwach sauer reagiert. Man erhitzt nochmals zum Sieden und filtriert; ist das Filtrat wasserklar, so ist kein Pseudomucin in der Flüssigkeit; erscheint aber das Filtrat trübe, so deutet es auf Pseudomucin. Mit Sicherheit kann man es aber nicht behaupten, weil die Trübung auch durch unvollständig abgeschiedenes Eiweiß bedingt sein könnte. Zur Bestätigung des positiven Befundes soll die nachstehende Probe ausgeführt werden: 2. 10—50 cm^3 Flüssigkeit (je nach dem spezifischen Gewicht) werden durch Kochen enteiweißt und mit einem 3fachen Volumen 95%igen Alkohols gefällt; der flockige Niederschlag wird abfiltriert, zwischen Filtrierpapier abgepreßt und in Wasser aufgelöst. Bei Anwesenheit von Pseudomucin entsteht eine opaleszierende Flüssigkeit. Man setzt Essigsäure zu und filtriert; zum Filtrat wird soviel konzentrierte Salzsäure zugesetzt, daß die Flüssigkeit 5% davon enthält (zu 4 Teilen des Filtrats 1 Teil 25% HCl). Die Flüssigkeit wird alsdann in dem Wasserbade 5—10 Minuten erhitzt (bis zu braungelber oder brauner Färbung). Nach dem Erkalten neutralisiert man mit konzentrierter Natronlauge und führt die *Fehling*sche und *Nylander*sche Probe aus. Beide Proben geben bei Gegenwart von Pseudomucin ein positives Resultat.

4. Hydronephrosen. Der Inhalt der Hydronephrosen gleicht nach seiner Beschaffenheit meist einem verdünnten Harn, kann aber mitunter durch Beimischungen pathologischer Bestandteile (Schleim, Eiter) sein Aussehen verändern. Zur Identifizierung einer Flüssigkeit als Hydronephroseninhalt genügt der gleichzeitige Nachweis des Harnstoffs und der

Harnsäure. Es ist jedoch zu berücksichtigen, daß diese Harnbestandteile in alten, völlig abgeschlossenen Cysten fehlen.

Über den Nachweis des Harnstoffs und der Harnsäure cf. Seite 110.

5. Echinokokkus-Cysten. Die Echinokokkusflüssigkeit ist gewöhnlich klar, von geringem spezifischem Gewicht, reagiert alkalisch oder neutral, enthält viel Kochsalz, kein Eiweiß oder nur ganz geringe Mengen desselben. Als charakteristischer Bestandteil der Echinokokkuscysten wird die Bernsteinsäure und ihre Salze betrachtet, weil dieselben häufig in kleinen Mengen gefunden wurden. Nach einfacher Methode wird die Bernsteinsäure folgenderweise nachgewiesen:

Man dampft die Flüssigkeit bis zur Sirupkonsistenz ein, säuert mit Salzsäure an und extrahiert mit alkoholhaltigem Äther. Der Äther wird durch Erwärmen auf dem Wasserbade entfernt und die Bernsteinsäure bleibt als eine kristallinische Masse zurück. Bei der mikroskopischen Untersuchung findet man sechsseitige Tafeln oder monoklinische Prismen. Beim Erhitzen auf dem Platinblech entstehen eigentümlich riechende und stark zum Husten reizende Dämpfe.

Eine einwandsfreie Diagnose einer Echinokokkuscyste kann jedoch nur durch die mikroskopische Untersuchung gestellt werden (Nachweis von Haken oder Membranen).

6. Pankreascysten. Der Inhalt der Pankreascysten zeigt meist ein hämorrhagische Beschaffenheit. Die Flüssigkeit enthält meist Eiweiß (Serumalbumin), mitunter auch Mucin. Die Anwesenheit eines diastatischen Ferments ist meist nachweisbar, ist aber für die Diagnose wenig verwertbar, weil Diastase auch in anderen Körperflüssigkeiten vorkommen kann; viel wichtiger ist der Nachweis des Trypsins, welcher so ausgeführt wird, daß die Flüssigkeit mit Milch versetzt und längere Zeit im Thermostaten gehalten wird; dann wird das Kasein ausgefällt und mit dem Filtrate die Biuretprobe ausgeführt. Der positive Ausfall der Probe beweist, daß die Flüssigkeit bei alkalischer Reaktion Eiweiß zu verdauen imstande ist. Damit ist der Beweis, daß es sich um eine Pankreascyste handelt, erbracht, da in anderen Punktionsflüssigkeiten noch kein bei alkalischer Reaktion peptonisieren-

des Ferment nachgewiesen worden ist. In alten abgekapselten Cysten kann aber das Ferment fehlen.

7. Zerebrospinale Flüssigkeit. Bei gesunden Menschen ist die durch Lumbalpunktion entleerte Flüssigkeit farblos, wasserklar und besitzt ein niedriges spezifisches Gewicht (1003—1006). Die chemische Beschaffenheit zeigt nichts Charakteristisches, so daß nur die mikroskopische und bakteriologische Untersuchung eine diagnostische Bedeutung haben.

B. Mikroskopische Untersuchung.

Man läßt die Flüssigkeit in einem Spitzglase einige Stunden stehen und entnimmt von dem Bodensatz mittelst einer Pipette einige Tropfen zur mikroskopischen Untersuchung. Ist die vorhandene Menge der Punktionsflüssigkeit gering und enthält wenig suspendierte Bestandteile, so wird sie zentrifugiert. Man untersucht zunächst ungefärbte Präparate; gefärbte Präparate werden am besten so verfertigt, daß man das Sediment mit einer kleinen Pipette auf einem Deckglase in dünner Schicht ausbreitet, an der Luft trocknen läßt und dann nach *May* und *Grünwald* gleichzeitig fixiert und färbt (cf. Seite 276).

In den Transsudaten findet man sehr wenig Formelemente: spärliche, meist in fettiger Umwandlung begriffene Leukozyten und vereinzeite flache Epithelien. Seröse Exsudate enthalten gewöhnlich neben Fibringerinnseln und roten Blutkörperchen (letztere werden meist während der Punktion beigemischt) viele Leukozyten und körnig oder fettig degenerierte Epithelien, welche nicht selten große Vakuolen zeigen. Bei Gegenwart einer Neubildung (Krebs) ist die Zahl der vakuolenhaltigen Zellen bedeutend vermehrt, sie zeigen dann eine stark vorgeschrittene Fettmetamorphose und sind in großen Gruppen gelagert. Besonders müssen solche Zellengruppen den Verdacht auf eine Neubildung erwecken, wenn sie in einem hämorrhagischen Exsudat angetroffen werden.

Die französischen Autoren schreiben den verschiedenen Arten von Leukozyten in den Punktionsflüssigkeiten eine diagnostische Bedeutung zu. Sie haben folgende sogenannte zytologische Formel aufgestellt:

1. Überwiegen die Lymphozyten, d. h. die einkernigen Leukozyten, so haben wir es mit einem Exsudate tuberkulöser Natur zu tun.

2. Das Überwiegen der polynukleären und eosinophilen weißen Blutkörperchen weist auf eine infektiöse, nichttuberkulöse Natur des Ergusses hin.

3. Das Überwiegen von endothelialen Zellen spricht für einen Erguß mechanischen Ursprungs (Transsudate bei Herz-, Nieren- und Leberkrankheiten).

Diese Formeln treffen zwar für einen großen Teil, leider aber nicht für alle Punktionsflüssigkeiten zu.

Bei der Untersuchung der Echinokokkusflüssigkeiten ist das Auffinden von Haken und Membranen für die Diagnose viel beweisender als der chemische Nachweis der Bernsteinsäure. In Ovarialcysten findet man außer roten und weißen Blutkörperchen, fettig degenerierte und vakuolenhaltige Zellen; charakteristisch sind Zylinderepithelzellen, Flimmer- und Becherzellen und Kolloidkonkremente.

Die zerebrospinale Flüssigkeit ist in der Norm wasserklar und enthält nur sehr vereinzelte Formelemente (Leukozyten). Bei Erkrankungen ist die Zahl der Formelemente sehr häufig vermehrt.

C. Bakteriologische Untersuchung von Punktionsflüssigkeiten.

I. Gewinnung des Untersuchungsmaterials.

Das Untersuchungsmaterial wird durch Probepunktion oder bei Gelegenheit therapeutischer Eingriffe (Empyemoperation, Lumbalpunktion etc.) gewonnen.

Bei intraperitonealen Ergüssen bedient man sich des Troikarts, den man in sitzender Stellung des Patienten an der linken Bauchseite in der Mitte zwischen Symphyse und Spin. ossis ilei anter. sup. einsticht. Die Punktionsflüssigkeit wird in sterilen Kolben aufgefangen.

Bei pleuritischen Ergüssen benutzt man zur Probepunktion eine sterilisierte Pravazspritze von 2—10 *cm*³ Inhalt mit einer mittelstarken, etwa 7 *cm* langen Stahlkanüle. Unmittelbar vor

der Punktion muß der Patient in derselben Körperstellung, in welcher der Eingriff geschehen soll, untersucht werden, um die Lage des Exsudats festzustellen. Der Einstich wird stets am oberen Rande einer Rippe vorgenommen, bei ausgedehnten Ergüssen links im 6. oder 7., rechts im 4. oder 5. Interkostalraum zwischen vorderer und mittlerer Axillarlinie, am Rücken im 8. oder 9. Interkostalraum.

Bei meningitischen Exsudaten erhält man das Untersuchungsmaterial durch die von *Quincke* eingeführte Lumbalpunktion. Es sind zwei Instrumentarien für diesen Eingriff in Gebrauch; das eine ist von *Quincke*, das andere von *Krönig* angegeben. Bei der Vornahme der Punktion befindet sich der Patient in Seitenlage mit gekrümmtem Rücken und an den Leib gezogenen Beinen. Die Hohlnadel wird zwischen 5. Lendenwirbel und Os sacrum einige Millimeter seitwärts von der Mittellinie eingestochen. *Quincke* empfahl als Ort des Einstichs den 3. oder 4. Interarkualraum. Der Hiatus sacrolumbalis ist jedoch für diagnostische Zwecke geeigneter, weil er „wegen der Spitzglasform des unteren Abschnittes des Arachnoidealsackes zugleich die Möglichkeit einer natürlichen Sedimentierung der histologischen und bakteriologischen Elemente gewährt" *(Krönig)*. Die Entleerung, welche stets unter Kontrolle des Manometers vorgenommen werden soll, muß abgebrochen werden, sobald der Druck die Höhe von 50 *mm* unterschreitet. Die Flüssigkeit wird in sterilen Reagenzgläsern in Mengen von je 10—20 cm^3 aufgefangen.

II. Methodik der Untersuchung.

1. Mikroskopische Untersuchung. Zeigt die Punktionsflüssigkeit eitrigen Charakter, so werden von derselben entweder direkt Präparate hergestellt oder es wird ein Teil zentrifugiert und das Sediment zur Anfertigung gefärbter Ausstrichpräparate benutzt. Man färbt mit verdünntem Karbolfuchsin oder Methylenblau, nach *Gram* und auf Tuberkelbazillen. Zum Nachweis der letzteren kann man auch das bei der Sputumuntersuchung beschriebene Sedimentierungsverfahren heranziehen. Ist das Exsudat bluthaltig, so muß die Kalilauge, bevor Gerinnung eintreten kann, zugesetzt werden. Handelt es sich um die Untersuchung eines serösen Exsudates, so empfiehlt es sich, möglichst viel von demselben zu entnehmen, da bei der häufig geringen Anzahl der darin

enthaltenen Mikroorganismen die Möglichkeit des Auffindens derselben mit der Menge des Untersuchungsmaterials wächst. Man läßt die seröse Flüssigkeit in dem Gefäße, in welchem sie aufgefangen ist, 6—24 Stunden im Eisschrank stehen. In dieser Zeit bildet sich in ihr oft ein spinnenwebenartiges Gerinnsel, welches die in der Flüssigkeit vorhandenen Bakterien einschließt. Das Gerinnsel wird mit der Platinöse in toto herausgenommen und sorgfältig auf den Objektträger ausgebreitet, an der Luft getrocknet, fixiert und gefärbt. Kommt es nicht zur Bildung eines derartigen Gerinnsels, so zentrifugiert man einen möglichst großen Teil der Flüssigkeit in einem Zentrifugenröhrchen. Das Sediment wird zu gefärbten Ausstrichpräparaten verarbeitet. Es empfiehlt sich, dieselben nicht in der Flamme, sondern 3 Minuten in Alkohol und Äther $\overline{aa}$ zu fixieren. Gute Bilder geben nach der Methode von *May* und *Grünwald* gefärbte Präparate (cf. Seite 276).

Jousset empfiehlt in neuerer Zeit für die Untersuchung seröser Punktionsflüssigkeiten besonders auf Tuberkelbazillen, aber auch auf andere Bakterien seine Methode der Inoskopie (ἴς, ἰνός = Fibrin): Nachdem sich das Gerinnsel gebildet hat, wird es von der Flüssigkeit durch Filtration getrennt, mit destilliertem Wasser gewaschen und mit 10—30 cm^3 folgender Mischung versetzt:

Pepsin	2·0
Glycerin. pur.	
Acid. hydroch. 22° *Baumé* $\overline{aa}$.	10·0
Natr. fluorat.	3·0
Aq. dest.	1000

Die in dieser Verdauungsflüssigkeit befindlichen Gerinnsel kommen auf 2—3 Stunden in den Brutschrank bei 37°; während dieser Zeit werden Fibrin und Zellprotaplasma aufgelöst, die Bazillen aber bleiben erhalten und erleiden auch in ihrer Färbbarkeit keine Einbuße. Hierauf wird zentrifugiert und der Bodensatz zur Herstellung von Präparaten benutzt.

Bildet sich spontan kein Gerinnsel, so schlägt *Jousset* vor, künstlich eine Gerinnung durch Zusatz geeigneter Mittel (z. B. Plasma von Pferdeblut) herbeizuführen.

Sehr häufig sind die Krankheitserreger in den Punktionsflüssigkeiten in so geringer Anzahl vorhanden, daß man eine ganze Reihe von Präparaten durchmustern muß, ehe man vereinzelte Bakterien findet. Bei der Untersuchung des Liq. cerebrospinalis auf Tuberkelbazillen empfiehlt *Slawyk*, den am Ende der Punktion ausgelaufenen Teil der Flüssigkeit zu untersuchen, da derselbe die Tuberkelbazillen zahlreicher enthält. Sind mikroskopisch keine Mikroorganismen sichtbar, so müssen die kulturelle Untersuchung und, wenn erforderlich, das Tierexperiment zu ihrem Nachweis herangezogen werden. In einer Anzahl von Fällen, besonders wenn es sich um alte Ergüsse handelt, versagen auch diese Methoden.

2. Kulturverfahren. Die Wahl des Nährbodens hängt von der Art der im Präparat gefundenen Mikroorganismen ab. Bei negativem Ausfall der mikroskopischen Untersuchung muß man verschiedenartige Nährböden zur Aussaat benutzen. Es kommen gewöhnlich Agar, Glyzerinagar, Serumnährböden, Blutagar (zur Züchtung der Influenzabazillen) zur Verwendung. Das Untersuchungsmaterial wird in der üblichen Weise auf das in Petrischalen ausgegossene Nährsubstrat verimpft. Sind, wie häufig in serösen Exsudaten, mikroskopisch keine oder nur vereinzelte Keime nachweisbar, so benutzt man zur Aussaat das durch Zentrifugieren erhaltene Sediment. Bei der kulturellen Untersuchung seröser Exsudate auf Tuberkelbazillen läßt man 30—50 Tropfen über Blutserum- oder Glyzerinagarröhrchen fließen. Den Überschuß der Flüssigkeit läßt man im Brutschranke bei 37° abdunsten, und erst wenn nur noch wenig Flüssigkeit zurückgeblieben ist, verschließt man die Röhrchen mit Gummikappen, um das Eintrocknen des Nährbodens zu verhüten.

3. Tierexperiment. Der Tierversuch dient erstens dem Nachweis von Mikroorganismen in der Punktionsflüssigkeit und zweitens der Identifizierung der im Präparat oder durch Kulturverfahren bereits gefundenen Bakterien. Derselbe muß natürlich sowohl was die Wahl des Versuchstieres als auch die Ausführung anlangt, dem Krankheitserreger angepaßt werden, auf dessen Vorhandensein man Verdacht hat oder den man identifizieren will. So wird man zur Verifikation resp. zum

Nachweis von Streptokokken und Pneumokokken die weiße Maus, von Tuberkelbazillen das Meerschweinchen als Versuchstier benutzen (cf. Sputumuntersuchung).

Bei der Untersuchung auf Tuberkelbazillen wird das Tierexperiment oft eher zum Resultat führen als das mikroskopische Präparat und Kulturversuche. Handelt es sich um seröse Exsudate, so verwendet man entweder das oben erwähnte Gerinnsel zur Impfung, oder man spritzt dem Versuchstier eine größere Menge des Exsudats, wenigstens 4 cm^3, ein. Bei eitrigen Exsudaten benutzt man das durch Zentrifugieren gewonnene Sediment.

III. Die wichtigsten bakteriologischen Befunde.

1. Peritonitische Exsudate. Der bakterielle Befund bei akuten Peritonitiden hängt vor allem von dem Organ ab, von welchem die Entzündung ausgeht. Sehr häufig sind Mischinfektionen. Ist die Bauchfellentzündung intestinalen Ursprungs, so finden sich vornehmlich zur Bacterium coli-Gruppe gehörige Stäbchen, daneben meist auch andere Mikroorganismen der Darmflora, wie Staphylokokken, Proteus vulgaris, Bacillus pyocyaneus etc. Die von den weiblichen Genitalien ausgehenden Infektionen des Peritoneums werden am häufigsten von Gonokokken hervorgerufen, die puerperale Bauchfellentzündung von Streptokokken und anderen Entzündungserregern. Bei Infektion von der Blutbahn aus sind zumeist Strepto- oder Pneumokokken nachgewiesen, bei Bauchfellentzündung im Anschluß an Operationen Streptokokken. Auch Typhusbazillen, Aktinomyces, diphtheroide und tetanusähnliche Stäbchen sind in peritonitischen Exsudaten gefunden worden.

Von größter Bedeutung sind schließlich die Tuberkelbazillen als Erreger chronischer Peritonitis.

2. Pleuritische Exsudate. Die pleuritischen Exsudate haben ebensowenig wie die peritonitischen eine einheitliche Ätiologie. Sowohl die Tuberkelbazillen wie sämtliche pyogenen Mikroorganismen können zur Bildung von Pleuraergüssen führen.

Die serösen Exsudate sind bei weitem am häufigsten tuberkulöser Natur. Fällt ihre mikroskopische und kulturelle

Untersuchung negativ aus, so liegt der Verdacht nahe, daß sie tuberkulösen Ursprungs sind. In solchen Fällen muß stets zur Stellung der Diagnose die Verimpfung auf Meerschweinchen vorgenommen werden.

In eitrigen Exsudaten werden am häufigsten Streptokokken angetroffen, ferner Pneumo-, Staphylokokken, Tuberkelbazillen. Seltenere Befunde stellen Influenzabazillen und Mikrok. tetragenus dar; Typhusbazillen wurden in pleuritischen Ergüssen im Verlaufe des Abdominaltyphus nachgewiesen.

Metapneumonische Pleuraergüsse enthalten häufig Pneumokokken allein oder zusammen mit Staphylo- und Streptokokken.

Jauchige Exsudate enthalten neben den Eiterkokken Fäulnisbakterien und anaërob wachsende Arten.

3. Meningitische Punktionsflüssigkeiten. Der normale Liquor cerebro-spinalis ist wasserklar, bakterienfrei und enthält nur ganz vereinzelte Lymphkörperchen und Endothelien. Die Farbe pathologischer Punktate ist wasserklar bei Hirnödem der Chlorotischen, der Urämiker und der an Tumor cerebri Erkrankten, desgleichen bei der serösen Meningitis *(Krönig)*.

Bei tuberkulöser Meningitis ist die Punktionsflüssigkeit ebenfalls meist wasserklar, mitunter etwas opaleszierend, oft reich an Leukozyten. Im Frühstadium scheinen die polynukleären und im späteren Stadium die einkernigen Leukozyten zu prävalieren.

Bei akuten, nichttuberkulösen Meningitisformen wechselt die Beschaffenheit des Punktates auch bei gleicher Entstehungsursache je nach der Intensität des Prozesses; dasselbe kann serös, fibrinös, fibrinös-eitrig oder reineitrig sein.

Als Erreger der akuten primären, epidemisch und sporadisch auftretenden Zerebrospinalmeningitis sind der Dipl. intracellularis meningitidis „Weichselbaum“ und der Dipl. pneumoniae nachgewiesen worden.

Über Diplokokkus pneumoniae cf. Seite 37.

Der Dipl. inter. mening. tritt in der Regel in Diplo- oder Tetradenform auf; die Kokken sind an der einander

zugekehrten Seite abgeplattet und erhalten dadurch Halbkugel- oder Kaffeebohnenform. Sie weisen oft ziemlich erhebliche Größenunterschiede auf und variieren auch in ihrer Färbbarkeit, so daß man in demselben Präparat neben normal großen und gut gefärbten Kokken kleinere und größere, schlecht tingierte (Degenerationsformen) findet. Sie gleichen in Form und Anordnung den Gonokokken, sind jedoch größer als diese. Wie die Gonokokken liegen sie im Exsudat oft zu Häufchen gruppiert innerhalb der Eiterzellen. Auch in ihrem tinktoriellen Verhalten stimmen sie mit den Gonokokken überein, sie färben sich leicht mit verdünnten Anilinfarbstoffen und entfärben sich nach der *Gram*schen Methode.

Kulturelles Verhalten: Der Dipl. Weichselbaum gedeiht am besten bei einer Temperatur von 36—37°. Auf Agar bildet er innerhalb 24 Stunden graue bis grauweiße, in durchfallendem Licht transparent und gelblich erscheinende Kolonien von 1—2 *mm* Größe, mit glatten oder wellig begrenzten Rändern.

Auf der Serumplatte ist das Wachstum üppiger; die graugelben Kolonien sind feucht glänzend, viszid wie die Kolonien des Dipl. Friedländer.

Die Züchtung aus meningitischen Exsudaten gelingt am ehesten auf Serum, aber auch diesem Nährboden bleibt das Wachstum mitunter aus.

Der Tierversuch kommt für diagnostische Zwecke nicht in Frage. Weiße Mäuse gehen nach intraperitonealer oder intrapleuraler Injektion nicht zu geringer Kulturmengen nach 24—48 Stunden zugrunde. Bei der Sektion finden sich in dem pleuritischen beziehungsweise peritonitischen Exsudat intra- und extrazellulare Diplokokken.

Als Erreger der sekundären Zerebrospinalmeningitis, welche im Anschluß an Infektionskrankheiten auftritt, sind Pneumo-, Staphylo-, Streptokokken, Influenzabazillen Diplobazillus Friedländer, Bact. coli, Pestbazillen beschrieben worden.

XI. KAPITEL.

Bakteriologische Untersuchung bei Erkrankungen der Haut.

Hauteiterungen.

Das Untersuchungsmaterial wird in der Regel durch Punktion mit steriler Spitze oder durch Inzision gewonnen. Wird die bakteriologische Untersuchung bei Gelegenheit einer Operation vorgenommen, so ist besonders darauf zu achten, daß das Untersuchungsmaterial nicht mit den angewandten Desinfizientien in Berührung kommt.

Die Untersuchung ist wie gewöhnlich eine mikroskopische und kulturelle. Der Tierversuch wird bei negativem Ausfall dieser beiden Methoden und zur Identifizierung gezüchteter Bakterien herangezogen.

Als Erreger furunkulöser Prozesse sind fast stets Staphyl. aureus oder albus mikroskopisch und durch Züchtung auf den üblichen Nährböden nachweisbar. Im Panaritiumeiter finden sich außer Staphylokokken auch Streptokokken, seltener B. coli. In akuten Abszessen und Phlegmonen begegnet man neben den genannten pyogenen Bakterien Pneumokokken, Typhusbazillen etc. Bei größeren Abszessen gelingt der Nachweis der Mikroorganismen in dem aus dem Zentrum entnommenen Eiter häufig nicht, während sie sich in der Peripherie, in der sogenannten Abszeßmembran, leicht auffinden lassen. In den sogenannten kalten Abszessen lassen sich in der Regel weder mikroskopisch noch kulturell Bakterien nachweisen. Auch das Vorhandensein von Tuberkelbazillen in denselben ist gewöhnlich erst durch Überimpfung des Eiters auf Meerschweinchen festzustellen.

Im Eiter von Gasphlegmonen werden zur Gruppe des B. coli und B. lactis aërogenes gehörige Bazillen sowie anaërobe Bakterien (Bac. emphysematosus) neben den gewöhnlichen pyogenen Bakterien gefunden.

In den multiplen Abszessen, welche bei Erkrankung an Rotz in der Haut und der Muskulatur zur Entwicklung kommen, ist es meist nicht möglich, mikroskopisch die Rotzbazillen nachzuweisen. In verdächtigen Fällen werden Kulturen auf Glyzerinagar und Kartoffeln angelegt und der Tierversuch angestellt. Sehr charakteristisch sind die Kartoffelkulturen. Nach 2 Tagen zeigt sich ein dünner, honiggelber Belag, welcher nach einer Woche braunrot wird und von einer leicht grünlich schimmernden Zone umgeben ist. Auf Glyzerinagar zeigen sich durchscheinende grauliche Kolonien.

Die Rotzbazillen (Fig. 68) sind kleine, schlanke, mitunter leicht gekrümmte, unbewegliche Stäbchen von der Größe der Tuberkelbazillen. Zu ihrer Färbung, die mit verdünnten Farbstoffen nicht gelingt, nimmt man am besten *Löfflers* alkalisches Methylenblau.

Als Versuchstier benutzt man das männliche Meerschweinchen, dem das verdächtige Material in der Medianlinie oberhalb der Blase in die Bauchhöhle gespritzt wird. Nach 2–3 Tagen zeigt sich eine Schwellung der Hoden als charakteristisches Symptom einer gelungenen Rotzübertragung. Aus den erkrankten Hoden werden Kartoffelkulturen angelegt.

Der Milzbrandkarbunkel, die sogenannte Pustula maligna, wird durch Infektion mit Anthraxbazillen hervorgerufen. Als Untersuchungsmaterial dient aus den tiefen Partien der verdächtigen Pustel entnommener Gewebssaft. Der seröse Inhalt der Pustel ist frei von Bazillen, da dieselben namentlich in den äußeren Teilen des Koriums um den Papillarkörper liegen. Es werden Präparate mit verdünntem Methylenblau, nach *Gram* und einer Methode, die zur Darstellung der Kapseln dient, gefärbt. Die mikroskopische Untersuchung ergibt jedoch meist nur kurze Zeit nach der Entstehung des Karbunkels ein positives Resultat; später gelingt der Nachweis des Krankheitserregers nur durch die Kultur und den Tierversuch, welche jedoch auch mitunter versagen können. Es werden mit dem Gewebssaft Gelatineplatten gegossen und Agarplatten ausgestrichen. Nach 24stündigem Wachstum finden sich die charakteristischen Kolonien der Anthraxbazillen; daneben kommen häufig Staphylokokken zur Entwicklung. Ferner wird das Untersuchungsmaterial einer weißen Maus oder einem Meerschweinchen in einer Hauttasche oberhalb der Schwanzwurzel eingeimpft.

Auch die beim Züchtungsverfahren zur Entwicklung gekommenen Bazillen werden durch Tierversuch identifiziert.

Die Anthraxbazillen (Fig. 69) sind glashelle, zylindrische, unbewegliche Stäbchen mit abgerundeten Enden; ihre Länge ist wechselnd, in Kulturen erscheinen sie erheblich größer als im tierischen Organismus. Sie färben sich leicht mit verdünnten Anilinfarbstoffen und sind nach *Gram* positiv. Im gefärbten Präparat pflegen die Stäbchen an ihren Enden eine leicht kolbenförmige Anschwellung und gleichzeitig eine tellerförmige Vertiefung zu zeigen, so daß, wenn zwei Stäbchen aneinander liegen, an der Berührungsstelle eine Lücke entsteht (Bambusform). Im Grampräparat sind sie oft nicht gleichmäßig gefärbt und erscheinen dann eigentümlich gekörnt. Bei Untersuchung aus dem Tierkörper stammenden Materials zeigen die Milzbrandbazillen eine Schleimhülle, sog. Kapsel, welche durch eine besondere Färbungsmethode zur Darstellung gebracht wird (cf. Seite 273).

Die Milzbrandbazillen bilden bei Anwesenheit von freiem O und bei Temperaturen über 18° C mittelständige Sporen.

Die Milzbrandbazillen wachsen auf allen gebräuchlichen Nährböden, auf Agar und Gelatine entwickeln sie sich zu sehr charakteristischen Kolonieformen. Man sieht bei Betrachtung mit schwacher Vergrößerung wie von einem Zentrum, das aus einem undurchsichtigen Fadengewirr zusammengesetzt ist, zahlreiche geschlängelte Ausläufer ausgehen, welche den Kolonien ein mähnenartiges Aussehen verleihen. Die Bouillon wird nicht in toto getrübt sondern läßt einen Bodensatz erkennen. In der Gelatinestichkultur findet das Wachstum den Impfstich entlang statt unter Bildung zarter baumartiger Verzweigungen. Die Gelatine wird verflüssigt, Milch zur Gerinnung gebracht.

Zum Tierversuch finden für diagnostische Zwecke weiße Mäuse und Meerschweinchen Verwendung. Bei subkutaner Impfung gehen die Tiere nach 1—3 Tagen an Milzbrandseptikämie zugrunde. Bei der Sektion findet man die Milz stark vergrößert; die Bazillen sind im Herzblut nur in geringer Zahl, dagegen in den Kapillaren aller Organe, besonders der Milz und Leber, in großer Menge nachweisbar und zeigen im mikroskopischen Präparat die charakteristischen Kapseln.

Differentialdiagnostisch kommen die Bazillen des malignen Ödems in Betracht; dieselben sind beweglich, besitzen keine Kapsel und sind streng anaërob. Von den milzbrandähnliche Kolonien bildenden Saprophyten (Kartoffel- und Heubazillen) sind die Anthraxbazillen durch ihre wohlcharakterisierten morphologischen

Eigenschaften und vor allem durch ihre Pathogenität zu unterscheiden.

Besonderer Erwähnung bedarf noch der Nachweis der Tetanusbazillen (Fig. 70) im Sekret infizierter Wunden.

Die Tetanusbazillen sind im Wundsekret stets so spärlich vorhanden, daß ihr mikroskopischer Nachweis nicht gelingt. Auch das Kulturverfahren ergibt oft ein negatives Resultat. Viel häufiger ist der Tierversuch erfolgreich. Man braucht hierzu Wundsekret, Granulationsgewebe oder den in der Wunde aufgefundenen Fremdkörper und impft weiße Mäuse oder Meerschweinchen in eine Hauttasche an einem Hinterschenkel. Sind die gerimpften Tiere nach fünf Tagen noch ohne Anzeichen von Tetanus, so ist das Resultat als negativ zu betrachten. Der positive Ausfall des Tierexperimentes genügt für die Diagnose, der Reinzüchtung der Krankheitserreger bedarf es nicht.

Die Tetanusbazillen sind schwach bewegliche, schlanke Stäbchen, welche in den aus Reinkulturen gewonnenen Präparaten teils einzeln liegen teils zu mehr oder weniger langen Fäden angeordnet sind. Sie bilden bei Zimmertemperatur nach 8—10 Tagen, bei Bruttemperatur nach 24—30 Stunden runde, endständige Sporen (Köpfchensporen), welche ihnen ein trommelschlägerartiges Aussehen verleihen. Die Tetanusbazillen färben sich leicht mit verdünnten Anilinfarbstoffen und nach der *Gram*schen Methode.

Kulturelles Verhalten. Die Tetanusbazillen sind anaërobe Bakterien, sie wachsen bei Luftabschluß auf allen gebräuchlichen Nährböden, besonders wenn denselben Traubenzucker (2%) zugesetzt ist. In Symbiose mit aëroben Bakterien entwickeln sie sich auch bei O-Anwesenheit.

Züchtung von Reinkulturen nach *Kitasato*. Das Untersuchungsmaterial wird auf Agarröhrchen überimpft, dieselben bleiben 1—2 Tage bei Bruttemperatur, es finden sich dann auf ihnen neben anderen Bakterien auch sporentragende Tetanusbazillen. Die Mischkultur wird nun zirka 1 Stunde im Wasserbade auf 80° erhitzt, wobei die anderen Bakterien abgetötet werden, während die widerstandsfähigen Tetanussporen entwicklungsfähig bleiben. Mit diesen werden nach einer der üblichen Methoden (cf. Seite 292) anaërobe Kulturen angelegt.

Auf Gelatine bilden sich nach fünftägigem Wachstum kleine Kolonien mit strahligen Ausläufern. Die Gelatine wird verflüssigt.

Auf Agar geht die Entwicklung rascher vor sich. Die zarten Kolonien erscheinen bei schwacher Vergrößerung betrachtet als ein Gewirr feiner Fädchen.

Tierversuch. Die empfänglichsten Versuchstiere sind Mäuse und Meerschweinchen, welchen man mit dem Untersuchungsmaterial imprägnierte Holzstückchen o. dgl. in eine Hauttasche einführt. Die ersten Tetanussymptome treten in den Muskelgruppen nahe der Impfstelle auf; die Tiere gehen mit gestreckten Hinterbeinen (in Robbenstellung) zugrunde. — Die Tetanusbazillen sind nur an der Impfstelle mikroskopisch und kulturell nachweisbar.

Von praktischem Werte ist mitunter der Nachweis der von *Ducrey* entdeckten Bazillen des Ulcus molle.

In Ausstrichpräparaten aus dem Sekret frischer Geschwüre, welche mit *Löfflers* Methylenblau, Boraxmethylenblau oder polychromem Methylenblau gefärbt sind, finden sich neben anderen Mikroorganismen kurze, gedrungene, an den Enden abgerundete, häufig polgefärbte Stäbchen, welche in Gruppen, zu Paaren oder auch einzeln extra- und intrazellulär liegen. Nach der *Gram*schen Methode verhalten sie sich negativ.

Charakteristisch ist das Bild, welches sie in Schnitten aus den Randpartien des exzidierten weichen Schankers darbieten: Hier liegen die Bazillen in oft sehr langen parallelen Ketten, stets extrazellulär in den Lymphspalten des Gewebes, überall ein wenig über die Grenze des absterbenden Gewebes hinaus in das noch lebende Plasmagewebe hineingehend.

(Färbung der Schnitte cf. Seite 280.)

Die Ulcus molle-Bazillen wachsen auf den gewöhnlichen Nährböden nicht. Ihre Züchtung gelingt mitunter aus dem Eiter der Geschwüre, bevor die Oberhaut durchbrochen ist, und aus Impfschankern auf Blutagar (2 Teile verflüssigter, auf 40—50° abgekühlter Agar vermischt mit einem Teil Kaninchenblut) und nicht koaguliertem Blutserum. Nach 48stündigem Verweilen bei 37° haben sich stecknadelknopfgroße, dunkelgraue, glänzende, runde Kolonien entwickelt, welche sich mit der Platinnadel auf der Oberfläche des Nährbodens in toto verschieben und abheben lassen. Die Kolonien bestehen aus polymorphen Stäbchen, die häufig reihenweise gelagert sind und im hängenden Tropfen unbeweglich erscheinen.

Zum Nachweis der *Ducrey*schen Bazillen bedient man sich auch der Inokulationsmethode in die menschliche Haut: Als Impfstelle wählt man die seitliche Bauchgegend des Patienten selbst.

Es werden mehrere ganz oberflächliche Impfritze gemacht, in welche das Sekret des zu untersuchenden Geschwürs verrieben wird. Nach 2—4 Tagen kommt es zur Entwicklung des Impfschankers, in dessen Sekret die Bazillen meist in großer Menge nachweisbar sind.

Tuberkulöse Affektionen der Haut.

Bei den tuberkulösen Hauterkrankungen kommt der bakterioskopischen Untersuchung in diagnostischer Beziehung keine Bedeutung zu, da wie in anderen Produkten chronischer Tuberkulose auch hier die Bazillen meist nur so spärlich vorhanden sind, daß ihr mikroskopischer Nachweis sehr häufig mißlingt. Am ehesten werden sie noch in Ausstrichpräparaten aus dem Sekret tuberkulöser Geschwüre aufgefunden, jedoch beweist ihr Nachweis gerade hier noch nicht mit Sicherheit, daß die Erkrankung ihnen wirklich ihre Entstehung verdankt, da sich auf ulzerösen Flächen Tuberkelbazillen ansiedeln können, ohne mit der Krankheit in ursächlichem Zusammenhang zu stehen. Ferner ist differentialdiagnostisch in Betracht zu ziehen, daß auf der Haut nicht selten auch andere säurefeste Stäbchen angetroffen werden.

Bei Tuberculosis cutis verrucosa finden sich Tuberkelbazillen vereinzelt in Schnittpräparaten.

Sicherer als durch mikroskopische Untersuchung gelingt der Nachweis der Bazillen in tuberkulös erkrankter Haut mit Hilfe des Tierexperiments. (Subkutane Impfung von Meerschweinchen.)

Durch Hyphomyceten hervorgerufene Hautkrankheiten (Dermatomykosen).

Gewinnung des Untersuchungsmaterials.

Zur Gewinnung von Epidermisschuppen wird entweder die Haut mit einem stumpfen, leicht angefeuchteten Skalpell abgeschabt, oder es wird nach *Unna* ein Stückchen Zinkpflastermull oder Heftpflaster auf die Haut gelegt und einige Minuten mit der warmen Hand angedrückt. Dann wird das Pflaster abgehoben, die daran klebenden Schuppen werden mit Benzin abgelöst und von dem ihnen anhaftenden Zinkoxyd mit salzsaurem Alkohol befreit.

Vor der weiteren Untersuchung kommen die Schuppen in Wasser, wo sie wieder aufquellen.

Haare werden zur Untersuchung epiliert; von den Nägeln werden kleine Partikel abgefeilt.

Mikroskopische Untersuchung.

Für diagnostische Zwecke genügt sehr häufig die Untersuchung im ungefärbten Präparat. Das Untersuchungsmaterial wird entweder in 40%iger Kalikarbonikumlösung oder 10—15%iger Natronlauge auf dem Objektträger verrieben oder zwischen zwei Objektträgern zerquetscht, nach leichter Erwärmung über der Flamme mit einem Deckglase bedeckt und bei mittlerer (ca. 300facher) Vergrößerung betrachtet. Zum Nachweis des Erythrasmaerregers bedient man sich der Ölimmersion.

Die Untersuchung im gefärbten Präparat wird vornehmlich dann vorgenommen, wenn die Pilzelemente so spärlich vorhanden sind, daß sie im ungefärbten Zustande der Beobachtung entgehen. Von den zahlreichen Färbeverfahren, welche empfohlen worden sind, seien die Methoden von *Bizzozero* nach der Modifikation von *Plauth* und die Methode von *Wälsch* erwähnt (cf. Seite 275).

Haare müssen vor der Färbung durch mehrstündiges Einlegen in eine Mischung von Alkohol und Äther entfettet werden.

Kulturverfahren. Die geeignetsten Nährböden sind Traubenzucker-, Glyzerin- und Maltoseagar, sog. Milieu d'épreuve von *Sabouraud* (Maltose 4·0, Pepton 2·0, Agar-Agar 1·5, Aq. dest. 100·0), ferner Brauwürzeagar. Bei der Züchtung der Fadenpilze aus der Hornschicht der Haut, den Haaren und Nägeln kann man sich der *Král*schen Methode bedienen. Man verreibt in einer Porzellanschale möglichst viel Material mit ausgeglühter Infusorienerde, ohne zu stark aufzudrücken, beschickt verflüssigten, auf 40° abgekühlten Agar mit 2 bis 3 Ösen der infizierten Infusorienerde und gießt Platten. Man kann auch in üblicher Weise Verdünnungen anlegen. Nach 2—3tägigem Wachstum werden die Platten bei schwacher Vergrößerung durchmustert, die verdächtigen Kolonien abge-

stochen und Reinkulturen angelegt. Nach *Sabouraud* wird die junge Kultur auf die Oberfläche von erstarrtem Maltoseagar überimpft, welcher sich im *Erlenmeyer*schen Kölbchen von 100 *g* Inhalt befindet. Die Agarschicht soll $1^1/_2$ *cm* hoch sein; die Kölbchen verbleiben ohne Verschluß durch eine Gummiklappe im Brutschrank.

W. Scholz empfiehlt für die Praxis das in der dermatologischen Klinik in Breslau übliche Verfahren, das sich besonders für die Züchtung von Favuspilzen aus den Haaren eignet.

Die einige Minuten in Äther entfetteten und dann mit Wasser abgespülten Haare und Schuppen kommen zur Abtötung der ihnen oberflächlich anhaftenden Keime auf 1 bis 2 Minuten in 1%iger Argentumlösung, dann für kürzere Zeit in steriles Wasser und physiologische Kochsalzlösung und werden schließlich nochmals in Wasser abgespült. Das Untersuchungsmaterial — die Haare nach Zerschneiden in kleine Partikel — wird dann auf der Oberfläche eines geeigneten Nährbodens verteilt.

Als diagnostische Hilfsmethode empfiehlt *Plauth* * besonders bei Trichophytiepilzen, welche bei Zimmertemperatur gedeihen, aber auch für Favuspilze, welche nur bei höheren Temperaturen zur Entwicklung kommen, „die Züchtung in situ".

Züchtung in situ bei Zimmertemperatur. Mehrere (3—4) Haare und Schuppen werden ohne Vorbehandlung, auch ohne Vorbehandlung der Läsion auf einen flambierten und wieder abgekühlten Objektträger gebracht. Über Schuppen und Haare wird ein zweiter flambierter Objektträger fest aufgedrückt, um das Material breit und dünn und für die mikroskopische Untersuchung durchsichtig zu machen. Dasselbe wird dann mit einem Deckglase bedeckt, das an jedem Ende mit einem Wachströpfchen befestigt wird. Der beschickte Objektträger kommt nun in eine flache feuchte Kammer. Diese besteht aus einem Teller, auf dem sich ein Glasschälchen zum Auflegen des Objektträgers befindet, und einer Glasglocke von 12 *cm*

* Zentralblatt f. Bakt. u. Parasitenkunde, 1902, Bd. 31, Nr. 5.

Durchmesser und 7 *cm* Höhe. Die Innenseite der Glocke ist oben mit Fließpapier austapeziert, das mit Wachstropfen befestigt wird und in der Mitte ein Loch besitzt, um die Kultur von oben bei geschlossener Glocke beobachten zu können. Nachdem Objektträger und Glocke am Platze sind, wird in den Teller Wasser gefüllt. Die Kultur muß vor Benetzung mit Wasser geschützt werden.

Will man auf gewöhnlichen Nährboden abimpfen, so schneidet man am Rande der Schuppe, nachdem tüchtige Pilzentwicklung erfolgt ist, ein Stückchen los und überträgt auf Maltoseagar etc. oder legt eine Plattenkultur nach der *Král*schen Methode an.

Bei Züchtung im Brutofen wird das Deckglas zum Schutze vor dem Kondenswasser mit einer feuchten Fließpapierbrücke ____⌈—⌉____ bedeckt, die mit Wachs an den freien Enden befestigt und jeden Morgen neu befeuchtet wird.

Mycelentwicklung, welche bei Züchtungsversuchen bei Zimmertemperatur in den ersten 2—3 Tagen eintritt und solche, welche nicht von den Haaren und Schuppen sondern vom Rande des Deckglases ausgeht, ist als Verunreinigung zu betrachten. Bei Züchtung im Brutschrank ist Verunreinigung durch Schimmel leicht zu erkennen, da es hier regelmäßig schnell zur Fruktifikation kommt.

Bei Zimmertemperatur entwickelt sich Trichophyton vom 6.—11. Tage an; bei Züchtung im Thermostaten bei 35° kann man auf diese Weise schon nach 48 Stunden eine Diagnose in positivem Sinne erhalten, wenn Trichophytie bzw. Favus vorliegt.

Favus.

Der Erreger des Favus ist das Achorion Schoenleinii. Sein Nachweis gelingt leicht, sobald die charakteristischen Efflorescenzen des Favus, die Scutula, vorhanden sind. Dieselben präsentieren sich als schwefelgelbe, meist von einem Haar durchbohrte, an der Oberfläche schüsselförmig gedellte, kom- Gebilde, welche in die Haut eingesenkt sind. Sie werden

isoliert, indem man die sie anfangs noch bedeckende Hornschicht einreißt und sie mit einer Myrthenblattsonde aus der Haut heraushebt. — Treten die Skutula nicht deutlich hervor, so kann man sie durch Betupfen der Haut mit Alkohol besser sichtbar machen.

Die Untersuchung erfolgt im ungefärbten Präparat. In demselben zeigt sich, daß das Skutulum aus einer feinkörnigen Masse besteht, in welcher zentral dichtgedrängt die abgeschnürten, doppelt konturierten, oval, rund oder rechteckig gestalteten Sporen liegen, peripher die im allgemeinen radiär angeordneten Mycelfäden. Dieselben erscheinen als sehr verschieden breite, vielfach septierte Schläuche, welche an den Enden manchmal zweigablig geteilt sind und an den Spitzen keulenförmige Anschwellungen zeigen; die Fäden knospen auch seitlich und schnüren die Seitenhyphen beinahe rechtwinklig ab.

Die zweite wesentliche Fundstätte für die Favuspilze bildet das Haar. Dieselben sind auch hier bereits im ungefärbten Präparat deutlich sichtbar. Man findet in der Längsrichtung des Haares angeordnete Mycelketten, welche meist aus rechteckigen Gliedern bestehen. Die Pilzelemente entwickeln sich in der inneren Wurzelscheide und im Haar selbst, hauptsächlich zwischen Cuticula und Haarrinde, doch dringen sie auch in die Corticalis ein, ohne in der Regel das Haar zu zersplittern.

Schwieriger ist der Nachweis des Krankheitserregers in den Epidermisschuppen, in welchen die Pilzelemente meist sehr spärlich vorhanden sind. Im ungefärbten Präparat kommen sie in der Regel nicht zu Gesicht; man bedient sich zu ihrer Darstellung am besten des Färbeverfahrens nach *Bizzozero* (cf. Seite 275).

Die Untersuchung der Nägel erfolgt ebenfalls im gefärbten Präparat; man findet meist versporte Mycelfäden. Der Lieblingssitz der Mycelfäden ist zwischen Nagelbett und Nagellamina.

Kulturverfahren. Der Favuspilz wächst am besten bei 35° auf stickstoffreichen Nährböden. Die Kolonien sind nach 8 Tagen etwa stecknadelkopfgroß, nach 2—3 Wochen vollkommen entwickelt. Das mikroskopische Aussehen der Kulturen wechselt außerordentlich unter dem Einfluß der verschiedensten Faktoren, wie Ernährungsverhältnisse, Temperaturdifferenzen, Alter der Kulturen etc. *Plauth*

unterscheidet zwei Haupttypen: 1. den Wachstyp: gelbliche Kuchen von wachsartiger Beschaffenheit mit radiären Falten und zentralen Erhebungen, in der Regel ohne Luftmycel, nur mitunter bildet sich ein kurzer Flaum; 2. den Flaumtyp: weiße, mit hohem Flaum bedeckte Scheiben mit zentralen, unregelmäßigen Erhebungen. Die Farbe ist wechselnd, schneeweiß, rötlich, gelb.

Tierversuch. Zur Anstellung des Tierexperiments benutzt man graue Mäuse, welche an Favus erkranken, wenn das Untersuchungsmaterial in der Haut an der Schwanzwurzel eingerieben wird. Der negative Ausfall des Versuchs spricht nicht gegen die Diagnose Favus, da nicht alle vom Menschen stammenden Favuspilze für Mäuse pathogen sind.

Trichophytie.

Unter dem Namen Trichophytie werden diejenigen Hautaffektionen zusammengefaßt, welche durch Fadenpilze, die zur Gruppe des Trichophyton gehören, hervorgerufen werden. Trotz zahlreicher Arbeiten, welche sich mit der Ätiologie dieser Krankheiten beschäftigen, ist die Frage noch nicht definitiv entschieden, ob die klinisch differenten Erscheinungsformen der Trichophytie von einem und demselben, sich durch großen Pleomorphismus auszeichnenden Erreger erzeugt werden, oder ob es verschiedene, echte Trichophytiearten sind, denen die einzelnen Krankheitsbilder ihre Besonderheit verdanken.

Vor allem ist es *Sabouraud*, der den letzteren Standpunkt vertritt. Von den wahren Trichophytien sondert er eine Form der Kopftrichophytie ab, die sogenannte Mikrosporie, welche durch einen kleinsporigen Pilz, das Mikrosporon Adouinii *(Gruby)*, hervorgerufen wird, einer Pilzart, welche nach seinen Untersuchungen von den Erregern der anderen Trichophytieformen völlig verschieden ist.

Mikrosporie. Als Untersuchungsobjekt dienen ausschließlich die Haare. Die den Haarboden wenig überragenden Haarstümpfe brechen beim Epilieren dicht unterhalb des Niveaus ab, die Wurzel bleibt im Haarboden stecken. Sie besitzen einen silbergrauen Glanz, welcher, wie schon die Betrachtung mit der Lupe ergibt, mit einer Scheide zusammenhängt, die den Haarstumpf überzieht. Bei der mikroskopischen Untersuchung

zeigt sich, daß die Scheide fast vollkommen aus dicht gedrängt liegenden, kleinen Ektosporen besteht. Im Innern des Haares finden sich Mycelfäden mit eigentümlich knorrigen, kurzen Ästen.

Züchtungsversuche sind bei dem leichten mikroskopischen Nachweis der Pilzelemente im Haar für diagnostische Zwecke nicht erforderlich.

Andere Formen der Kopftrichophytie werden nach *Sabouraud* durch einen großsporigen Pilz veranlaßt. Die Pilzelemente finden sich im Innern der dicht über dem Haarboden abgebrochenen, verdickten und schwer zu epilierenden Haare in Form großer, runder, etwas ungleichmäßiger, deutlich doppelt konturierter Sporen, die lange Rosenkranzketten bilden.

Barttrichophytie.

Bei der oberflächlichen Form der Barttrichophytie gelingt der Nachweis der Pilze gewöhnlich leicht in den Randhaaren der Ringe. Die Pilze sind in der Regel in Sporenform um den Follikel gelagert, die Mycelien verlaufen in der Längsrichtung in der inneren Wurzelscheide und dringen auch in die Haarsubstanz selbst ein.

Bei der tiefen Form der Barttrichophytie (Sycosis parasitaria) ist der mikroskopische Nachweis der Krankheitserreger schwieriger. Derselbe gelingt leicht bei Anwendung des Kulturverfahrens, wenn man das eitrige Sekret aus der Tiefe des Krankheitsherdes zur Aussaat verwendet.

Um unter einer Reihe ausgezogener Haare makroskopisch zu unterscheiden, welche von ihnen pilzhaltig sind, befeuchtet man die Haare mit Chloroform; nach Verdunsten des Chloroforms nehmen nur die von Pilzen durchwucherten Haare eine kreideweiße Farbe an. Befeuchtet man dann die Haare mit Öl, so erscheint wieder die normale Farbe.

Körpertrichophytien.

Trichophytia circumscripta und disseminata. Die Pilze finden sich als langgestreckte mäßig verzweigte, wenig Konidien abschnürende Fäden in den Hautschuppen.

Sie treten jedoch besonders bei Trichophytia disseminata gewöhnlich so vereinzelt auf, daß sie selbst im gefärbten Präparat nicht ohne Schwierigkeit aufgefunden werden können.

Gerade für diese Formen empfiehlt *Plauth* seine Methode der Züchtung in situ als diagnostisches Hilfsmittel.

Bei Eczema marginatum finden sich dagegen die Pilze in großer Menge in den Schuppen.

Bei Onychomycosis trichophytina findet sich neben Mycelfäden eine intensive Vegetation von Sporen.

Kulturverfahren. Die Trichophytiepilze wachsen im Gegensatz zu den Favuspilzen bei 20—24° ebensogut wie bei Körpertemperatur und gedeihen vorzüglich auf stickstoffarmen, aber kohlehydratreichen Nährböden. Gelatine wird verflüssigt. Die Kulturen sind durch großen Polymorphismus ausgezeichnet, besonders ist die Pigmentbildung selbst bei einem und demselben Stamme überaus wechselnd. Die Trichophytiepilze bilden beim Wachstum auf Agar vielstrahlige Sterne mit langen Strahlen, welche von einem Zentrum ausgehen, das sehr verschiedenartig gestaltet sein kann. Es erscheint zugespitzt, knopfförmig oder kraterartig vertieft. Die Oberfläche der Kultur ist oft wie mehlig bestaubt, mitunter bildet sich ein watteartiges Luftmycel. Die Farbe der Kolonie kann gelb, rosa, violett, braunrot, braunschwarz sein.

Differentialdiagnose. Auf Grund der bakteriologischen Untersuchung allein ist es nur in einer beschränkten Anzahl von Fällen möglich, die Differentialdiagnose zwischen Favus und Trichophytie zu stellen. Sind die spezifischen Favusgebilde, die Scutula, vorhanden, so liefert die mikroskopische Untersuchung ein überaus typisches Bild. Aber gerade da, wo klinisch die Diagnose zwischen Favus und Trichophytie schwankt, sind in der Regel so spärliche Pilzelemente nachweisbar, daß die den Favuspilz gegenüber den Trichophytie-Erregern charakterisierenden Merkmale, der große Formenreichtum der Pilzelemente, die dickere, mehr knorrige Beschaffenheit der reich septierten Fäden mit ihren mehr recht- als spitzwinkligen Verzweigungen, im mikroskopischen Präparat nicht deutlich genug hervortreten. Auch das Kulturverfahren läßt in diesen Fällen sehr häufig in Stich, da unzweifelhafte Fruktifikationsorgane, welche sonst die Unterscheidung der Hyphomyceten untereinander ermöglichen, bei den Hautfadenpilzen nicht

bekannt sind und das makroskopische Aussehen der Kulturen unter dem Einfluß der verschiedensten Faktoren so stark wechselt, daß sich Favus- und Trichophytie-Kulturen außerordentlich gleichen können. Der Tierversuch schließlich liefert nur bei positivem Ausfall ein für die Diagnose verwertbares Resultat. In vielen Fällen ist die bakteriologische Untersuchung nur insofern von diagnostischer Bedeutung, als durch dieselbe festgestellt werden kann, daß überhaupt eine Dermatomykose vorliegt.

Pityriasis versicolor.

Pityriasis versicolor wird durch Mikrosporon furfur hervorgerufen. Dasselbe findet sich ausschließlich in der Hornschicht. In den Schuppen, welche in Kalilauge, Glyzerin oder Wasser betrachtet werden, sind zahlreiche Pilzelemente in Form kurzer, wenig verzweigter, U-förmig gekrümmter Fäden nachweisbar, zwischen welchen haufenförmig angeordnete Sporen sichtbar sind.

Das mikroskopische Bild ist so charakteristisch, daß Kulturversuche zu diagnostischen Zwecken nicht erforderlich sind.

Die Züchtung der Pilze aus den Schuppen macht große Schwierigkeiten; ist dieselbe aber einmal gelungen, so wächst der Pilz in späteren Generationen leicht auf den gebräuchlichen Nährböden sowohl bei Zimmer- als auch bei Körpertemperatur. Vor Entnahme der Schuppen zur Züchtung wird die Hautstelle mit Sublimat desinfiziert, mit Wasser abgespült und mit Äther-Alkohol-Mischung betupft. Die nach *Králs* Methode verriebenen Schuppen werden auf Harnagar (1 : 10) oder auf *Fingers* Epiderminagar übertragen.

Erythrasma.

Der Erreger des Erythrasma ist nach Annahme der meisten Autoren das Mikrosporon minutissimum. Dasselbe hat ebenfalls seine Wucherungsstätte in der Hornschicht der Haut. Die Untersuchung erfolgt am besten nach Färbung der Schuppen nach *Bizzozero* mit Ölimmersion. Die Pilzelemente

zeichnen sich durch außerordentliche Zartheit aus. Es finden sich lange, vielfach gewundene, dicht septierte Fäden in dichter Anordnung. Zwischen den Mycelfäden sind zahlreiche, verschieden geformte Sporen gelagert, welche wegen ihrer Kleinheit leicht mit Kokken zu verwechseln sind.

Die Züchtung des Pilzes ist bisher nicht gelungen.

XII. KAPITEL.

Die gebräuchlichen bakteriologischen Untersuchungsmethoden, Farbrezepte, Nährböden.

I. Untersuchung im hängenden Tropfen.

Zur Untersuchung im hängenden Tropfen bedient man sich des sog. hohlgeschliffenen Objektträgers. Die Höhlung desselben wird rings an ihrem Rande mit einer Vaselinschicht umzogen. Dann bringt man auf die Mitte eines in eine *Cornet*sche Pinzette gespannten Deckglases mit der ausgeglühten und wieder abgekühlten Platinöse einen Tropfen steriler, physiologischer (0·85%) Kochsalzlösung oder Bouillon und schwemmt mittelst ausgeglühter Platinnadel eine ganz kleine Menge des bakterienhaltigen Materials darin auf. Handelt es sich um flüssiges Material, so wird ein Tropfen desselben direkt auf das Deckglas gebracht. Der Tropfen soll flach und rund sein. Das Deckgläschen wird darauf so auf den Objektträger gelegt, daß der Tropfen frei in seine Höhlung hineinhängt und diese selbst durch das gegen das Vaselin fest angedrückte Deckgläschen vollkommen verschlossen wird.

Bei der mikroskopischen Untersuchung benutzt man den Hohlspiegel und schaltet die Irisblende ein. Zunächst stellt man sich bei ganz enggestellter Blende und schwacher Vergrößerung den Rand des Tropfens ein, so daß derselbe als hellglänzende Linie die Mitte des Gesichtsfeldes durchzieht. Dann wird die Blende etwas geöffnet, ohne das Präparat zu verschieben, ein Tropfen Zedernöl auf das Deckglas gebracht

und das schwache Objektiv mit der Immersionslinse vertauscht. Man stellt zunächst wieder den Rand des Tropfens ein. Um ein Zertrümmern des Deckglases zu vermeiden, muß der Tubus, nachdem die Linse in das Öl eintaucht, sehr vorsichtig gesenkt werden.

II. Untersuchung im gefärbten Ausstrichpräparat.

A. Herstellung der Präparate.

1. Ausstreichen des Materials auf dem in der *Cornet*schen Pinzette befindlichen Deckglase. Flüssiges Material wird direkt mit der Platinöse in gleichmäßig dünner Schicht über die ganze Oberfläche des Deckglases verteilt, festes Material nach Anschwemmung in einem Tropfen sterilen Wassers.

2. Das Präparat wird an der Luft getrocknet. Durch vorsichtiges Erwärmen des mit der Präparatseite nach oben gerichteten Deckglases über der Flamme kann das Trocknen beschleunigt werden.

3. Fixieren des Präparates.

Das Deckglas — die Präparatseite nach oben — wird dreimal durch die Flamme gezogen. Für besondere Zwecke, z. B. Untersuchungen von Blut, fixiert man die Präparate durch Einlegen in Alkohol (10 Minuten) oder in Alkohol und Äther $\overline{aa}$ 2—10 Minuten. Fixieren nach *Sobernheim* cf. Seite 42.

4. Färbung.

Mit einer Pipette oder aus einer Tropfenflasche wird soviel Farblösung auf das in der *Cornet*schen Pinzette befindliche Deckglas geträufelt, daß dasselbe schwappend bedeckt ist.

Die Färbung wird in der Kälte oder unter Erwärmen über der kleinen Flamme bis zur Dampfbildung vorgenommen. Die Färbedauer schwankt zwischen einigen Sekunden bis mehreren Minuten je nach der Art der Bakterien und der Methode der Färbung.

6. Abspülen mit Wasser.

7. Trocknen zwischen Fließpapier.

8. Einlegen in Kanadabalsam.

Die Untersuchung gefärbter Präparate wird bei völlig geöffneter Blende und unter Anwendung des Planspiegels mit der Immersionslinse vorgenommen. Zum Durchmustern der Präparate benutzt man stets schwache Okulare, da starke Okulare das Bild zwar größer, aber gleichzeitig dunkler und undeutlicher erscheinen lassen.

B. Färbemethoden und Farblösungen.

Die Färbung der Bakterien geschieht mit basischen Anilinfarbstoffen. Am häufigsten kommen zur Verwendung: Fuchsin, Methylenblau, Bismarckbraun, Methylviolett, Dahlia, Gentianaviolett. Mit Ausnahme der säurefesten färben sich die meisten Bakterien mit verdünnten, wässerigen Farblösungen. Da diese jedoch nur beschränkte Zeit haltbar sind, stellt man sich zunächst sog. Stammlösungen her, welche lange Zeit aufbewahrt werden können, und verdünnt diese jedesmal zum Gebrauch. Alle Farblösungen müssen sorgfältig filtriert werden.

Stammlösungen.

Man bereitet sich gesättigte alkoholische Lösungen von Fuchsin, Methylenblau, Gentianaviolett, indem man in einem mit Glasstopfen verschließbaren Gefäß soviel Farbstoff mit absolutem Alkohol übergießt, daß ein Teil ungelöst bleibt. Die Lösung wird von dem Bodensatz abfiltriert. — Als Stammlösung für Fuchsin wird vielfach auch das *Ziehl*sche oder *Czaplewski*sche Karbolfuchsin, für Methylenblau die Boraxmethylenblaulösung benutzt:

*Ziehl*sches Karbolfuchsin:

Fuchsin	1·0
Alkohol	10·0
Acid. carbol. liquefact.	5·0
Aq. dest.	100·0

Czaplewskis Karbolfuchsin:

Fuchsin	1·0
Acid. carbol. liquef.	5·0
Glyzerin	50·0
Aq. dest.	100·0

Boraxmethylenblau:

Methylenblau	2·0
Borax	5·0
Aq. dest.	100·0

Die gesättigten, alkoholischen Stammlösungen werden zum Gebrauch in einem Reagenzglase so stark mit destilliertem Wasser verdünnt, daß sie gerade durchsichtig sind.

Aus Karbolfuchsin und Borax-Methylenblau wird die verdünnte Farblösung durch Mischung mit der zehnfachen Menge destillierten Wassers bereitet.

Färbung nach *Gram*.

1. Karbolgentianaviolett 3′, ohne das Präparat zu erwärmen.
2. *Lugol*sche Lösung $1^1/_2$′.
3. 10% Acetonspiritus, solange Farbwolken vom Präparat abgehen.
4. Wasserspülung.
5. Bismarckbraun 1′ oder Karbolfuchsin in einer Verdünnung von 1 : 20 Aqua dest. 5 Sekunden.
6. Wasserspülung, Trocknen etc.

Nach 1 und 2 wird das Präparat nach Abgießen des Farbstoffes (keine Wasserspülung!) zwischen Fließpapier getrocknet.

Karbolgentianaviolett läßt man durch ein Filter auf das Präparat träufeln.

Karbolgentianaviolett:		*Lugol*sche Lösung:	
Gentianaviolett	1·0	Jod	1·0
Alkohol	10·0	Kal. jod.	2·0
Acid. carbol. liquef.	5·0	Aq. dest.	300·0
Aq. dest.	100·0		
Acetonspiritus:		Bismarckbraun	1·0
Aceton	10·0	Alkohol	10·0
Alkohol abs.	ad 100·0	Aq. dest.	100·0

Färbung der Tuberkelbazillen und der anderen säurefesten Bakterien.

a) Methode von *Ziehl-Nielsen*.

1. Karbolfuchsin 3′ unter Erwärmen bis zur Dampfbildung.
2. Wasserspülung.
3. 20% Salpetersäure 3—5 Sekunden.

4. Wasserspülung.
5. 60% Alkohol bis zur Entfärbung.
6. Wasserspülung.
7. Verdünnte Methylenblaulösung 1 Minute.
8. Wasserspülung etc.

Karbolfuchsin cf. Seite 268.

b) Methode von *Czaplewski.*

1. Karbolfuchsin unter Erwärmen bis zum Sieden.
2. Abtropfen des Farbstoffes ohne Wasserspülung.
3. Eintauchen in Fluorescinmethylenblau 6—10mal nacheinander.
4. Eintauchen in konzentrierte alkoholische Methylenblaulösung 10—12mal nacheinander.

3 und 4 eventuell wiederholen.

5. Wasserspülung etc.

Fluorescin-Methylenblau	Konzentrierte alkoholische Methylenblaulösung
Gelbes Fluorescin (*Grübler*, Leipzig) . . . . 1·0	Methylenblau . . . . 5·0
Alkohol . . . . 100·0	Alkohol . . . . 100·0
1—2 Tage stehen lassen, dann vom Bodensatz abgießen und Zugabe von Methylenblau . . . . . 5·0	
Schütteln; 1 Tag stehen lassen und vom Bodensatz abgießen.	Beim Gebrauch vom Bodensatz abfiltrieren.

c) Methode von *Fränkel-Gabbet.*

1. Färbung mit Karbolfuchsin 3 Minuten unter Erwärmen.
2. Entfärbung und gleichzeitige Gegenfärbung mit folgender Mischung:

Alkoholische gesättigte Methylenblaulösung . .	50·0
Schwefelsäure	25·0
Aq. dest.	100·0

d) Methode von *Pappenheim.* (Färbung zur Differentialdiagnose zwischen Tuberkelbazillen und anderen säurefesten Stäbchen.)

1. Färbung mit Karbolfuchsin 3 Minuten unter Erwärmen.
2. Ohne vorhergehende Wasserspülung 3—5maliges Eintauchen in die Corallinlösung.
3. Wasserspülung etc.

Corallin.

Corallin	1·0
Alkoholische gesättigte Lösung von Methylenblau	100·0
Glyzerin	20·0

e) Methode vom *Baumgarten* zur differentialdiagnostischen Färbung der Leprabazillen.

1. Färbung mit stark verdünnter Karbolfuchsinlösung 5 Minuten.
2. Entfärbung in einer Lösung von 1·0 Salpetersäure in 10·0 Alkohol 20 Sekunden.
3. Wasserspülung.
4. Nachfärbung mit Methylenblau.

Färbung der Diphtheriebazillen.

a) Färbung mit Karbolfuchsin 1 : 10 Aqua dest. 1 Minute, ohne zu erwärmen.

b) Färbung mit *Löfflers* alkalischem Methylenblau

2 Minuten, ohne zu erwärmen.

Löfflers alkalisches Methylenblau.

Konzentrierte alkoholische Methylenblaulösung	30·0
0·01% wässerige Kalilaugenlösung	100·0

c) Färbung nach *Roux*

2 Minuten, ohne erwärmen.

I. Dahliaviolett	1·0	II. Methylgrün	1·0
Alkohol	10·0	Alkohol	10·0
Aq. dest.	100·0	Aq. dest.	100·0

Zum Gebrauch wird ein Teil der Farbe I mit zwei Teilen der Farbe II gemischt. Diese Lösung kann vorrätig gehalten werden.

d) Färbung nach *Neisser.*

1. Farbe I 20—30 Sekunden.
2. Spülung mit destilliertem Wasser.
3. Farbe II 10—20 Sekunden.
4. Spülung mit destilliertem Wasser etc.

I. Methylenblau . .	1·0	II. Bismarckbraun . .	2·0
Alkohol	20·0	Aq. dest. ad. . .	1000·0
Acid. acet. glacial. .	50·0	(Leicht zersetzlich.)	
Aq. dest. ad. . .	1000·0		

Färbung der Gonokokken.

a) Färbung mit stark verdünnter Methylenblaulösung 2 Minuten ohne Erwärmen.

b) Gramfärbung cf. Seite 269.

c) Doppelfärbungen.

Methode von *Pappenheim.* (Modifikation von *Krystallowicz.*)

Färbung 1 Minute ohne Erwärmen in folgender Lösung:

Methylgrün	0·15
Pyronin	0·25
Alkohol	2·5
Glyzerin	20·0
Aq. carbolisat. 2% ad . .	100·0

Methode von *May-Grünwald.*

Färbung 2 Minuten. Deckglas mit der Präparatseite nach unten unfixiert in die Farblösung legen.

Farbrezept cf. Seite 222.

Methode von *Schäffer.*

1. Karbolfuchsin 1 : 20 . . . . 10—20 Sekunden.
2. Nachfärbung und Differenzierung mit einer 1%igen Äthylendiaminlösung, welcher soviel Tropfen Methylenblau ·esetzt sind, daß die Lösung hellblau erscheint.

Methode von *Pick-Jacobsohn.*

Färbung $^1/_2$ Minute in folgender Mischung.

Aqua dest.	20·0
Karbolfuchsin . . .	15 Tropfen
Löfflers alkal. Methylenblaulösung . . .	8 „

Die Farbe muß jedesmal frisch bereitet werden.

Sporenfärbung.

Methode von *Klein.*

1. Die sporenhaltige Agarkultur wird mit physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt, die Aufschwemmung wird mit der gleichen Menge Karbolfuchsin versetzt, gelinde erwärmt und bleibt zirka $^1/_2$ Stunde stehen.

2. Ausstreichen der Aufschwemmung auf Deckgläser, an der Luft trocknen lassen, fixieren in der Flamme.

3. Entfärbung in 1%iger Schwefelsäure 1—2 Sekunden.

4. Wasserspülung.

5. Färbung mit verdünnter Methylenblaulösung 3—4 Minuten.

Die Sporen sind rot, die Bazillen blau gefärbt.

Kapselfärbung der Milzbrandbazillen.

a) Methode von *Johne.*

1. Färbung mit 2%iger wässeriger Gentianaviolettlösung 2 Minuten unter vorsichtigem Erwärmen.

2. Wasserspülung.

3. Entfärbung in 1—2%iger Essigsäure 6—10 Sekunden.

4. Wasserspülung.

Untersuchen in Wasser, nicht in Kanadabalsam!

b) Methode von *Räbiger.*

1. Färbung mit Formalingentianaviolett ohne vorhergehende Fixierung 20 Sekunden.

2. Wasserspülung, Trocknen, Einlegen in Kanadabalsam.

Formalingentianaviolett:

15—20 *g* Gentianaviolett werden mit 100—200 *cm*³ Formalin übergossen, tüchtig verrührt und filtriert, nachdem die Mischung einige Stunden gestanden hat.

Geißelfärbung.

Zur Darstellung der Geißeln bereitet man sich eine sehr dünne Aufschwemmung von Bakterien, welche von jungen Agarkulturen entnommen sind, und streicht in sehr dünner Schicht auf vollkommen saubere, fettfreie Deckgläschen aus. Man fixiert, um zu starke Erhitzung zu vermeiden, indem man das Deckglas zwischen den Fingern durch die Flamme zieht.

a) Methode von *Löffler*.

1. Beizen der Geißeln unter Erwärmen bis zum schwachen Dampfen (Beize siehe unten).
2. Wasserspülung, bis die Beize vollkommen entfernt ist.
3. Abspülen in Alkohol.
4. Färbung mit Anilinwasser-Fuchsinlösung, der 1% Natronlauge bis zum Eintritt der Schwebefällung zugesetzt ist, 1 Minute unter Erwärmen bis zur Dampfbildung.
5. Wasserspülung, Trocknen, Einlegen in Kanadabalsam.

Beize.

20% Tanninlösung 10 *cm*³,
Kalt gesättigte Ferrosulfatlösung 5 *cm*³.
Wässerige oder alkoholische Fuchsinlösung 1 *cm*³.

Für manche Bakterien muß der Beize Alkali (einige Tropfen 1%iger NaOH-Lösung), für andere Säuren (H_2SO_4) zugesetzt werden.

Anilinwasser.

Man gibt zu 5 Teilen Anilinöl 100 Teile Wasser, schüttelt tüchtig durch und filtriert durch ein angefeuchtetes Filter. Das Filtrat muß vollkommen klar sein. In dem Anilinwasser wird die Farbe direkt gelöst, oder es wird von einer konzentrierten, alkoholischen Lösung soviel zugegossen, bis eine deutliche Opaleszenz entsteht.

b) Methode von *Bunge.*

1. Beizen 1—5 Minuten unter Erwärmen.
2. Wasserspülung.
3. Trocknen zwischen Fließpapier.
4. Färben mit Karbolgentianaviolett unter Erwärmen.
5. Wasserspülung etc.

Beize: 3 Teile einer wässerigen, konzentrierten Tanninlösung werden mit 1 Teil einer wässerigen Lösung von Liq. Ferr. sesquichlor. 1 : 20 vermischt; zu 10 cm^3 dieser Mischung wird 1 cm^3 konzentrierte, wässerige Fuchsinlösung hinzugefügt.

Die Beize muß einige Tage stehen. Vor dem jedesmaligen Gebrauch wird tropfenweise H_2O_2 bis zur Rotbraunfärbung zugesetzt.

Weitere Methoden sind angegeben von *van Ermengen, Zettnow* und anderen.

Färbung der Fadenpilze.

a) Methode von *Bizzozero*, modifiziert von *Plauth.*

„Schuppen werden mit Eisessig auf den Objektträger gebracht und mit einem zweiten Objektträger zerquetscht. Dann Härtung und Entwässerung durch Alkoholanwendung und Erwärmung, bis Alkohol und Eisessig verdunstet sind und die Schüppchen noch etwas feucht auf trockner Umgebung liegen. Färbung mit *Ziehl*scher Lösung 3 Minuten lang, vorsichtig mit Fließpapier abtupfen. Jodjodkalilösung (1 : 2 : 300) 1 Minute, dann Entfärbung mit Anilinöl, bis keine Farbwölkchen mehr abgehen. Untersuchung in Anilinöl oder Xylol. Die Pilzelemente erscheinen tief dunkelrot, das Gewebe blaßrosa gefärbt.“ (*Plauth* im Handbuch d. pathog. Mikroorg. v. *Kolle* und *Wassermann*).

b) Färbung nach *Wälsch.*

1. Mischung von Anilinwasser (cf. Seite 274) und konzentrierter alkoholischer Gentianaviolettlösung (2:1) 10—15′.

2. Mischung von H_2O_2 und 5%iger wässeriger Jodkalilösung zu gleichen Teilen 3′.

3. Behandlung mit Anilinöl, dem 1% HCl zugesetzt ist, bis zur vollständigen Entfärbung (dicke Schuppen, Nägel, Haare 8—10 Stunden, dünne Schuppen, Mikrotomschnitte 2—6 Stunden).

4. Abspülen in Xylol.

5. Einlegen in Kanadabalsam.

(Mikrotomschnitte können mit Pikrokarmin vorgefärbt werden.)

c) Färbung nach *Kühne-Weigert.*

1. Kristallviolett (cf. Seite 280) ca. 5 Minuten.

2. *Lugol*sche Lösung bis zur Schwarzfärbung (1 bis 2 Minuten).

3. Abtrocknen mit Fließpapier.

4. Anilinöl, bis kein Farbstoff mehr abgeht.

5. Xylol (zur Entfernung des Anilinöls).

5. Kanadabalsam.

Färbung von Blutpräparaten.

Blutpräparate werden in Alkohol 10 Minuten oder in Alkohol und Äther $\overline{aa}$ 3 Minuten fixiert.

a) Methode von *Manson.*

1. Färbung mit Boraxmethylenblaulösung (cf. Seite 268), welche so stark verdünnt wird, daß sie im Reagenzglase gerade durchsichtig erscheint (5—10 Sekunden).

(Das Präparat wird in die Farblösung eingetaucht.)

2. Abspülen in einem Glase Leitungswasser, bis das Präparat einen grünlichen Farbenton zeigt.

3. Trocknen, Einlegen in Zedernöl.

b) Methode von *May-Grünwald* (cf. Seite 222). Färbedauer beträgt 2 Minuten. Das Deckglas wird mit der Präparatseite nach unten in die Farblösung gelegt.

c) Methode von *Giemsa.* (Modifikation der *Romanowski*schen Färbung.)

Stammlösungen: 1%ige wässerige Eosinlösung, 0·8‰ige wässerige Lösung von Azur (Höchst).

Herstellung der eigentlichen Farbflüssigkeit: 1 cm^3 der 1%igen Eosinlösung wird mit 200 cm^3 Aq. dest. verdünnt. Hiervon werden 19 cm^3 mit 1 cm^3 der 0·8‰igen Azurlösung vermischt.

Auf dieser Farbenmischung, die in ein Blockschälchen gegossen wird, läßt man das Präparat schwimmen. Die Färbedauer schwankt zwischen 10 Minuten und mehreren Stunden. Die Färbung wird unter dem Mikroskop kontrolliert, indem man das Präparat zunächst in Wasser eingelegt betrachtet (Trockensystem). Beim Auftreten von Farbniederschlägen Abspülen des Präparates in 30—40%igem Alkohol.

III. Untersuchung von Schnittpräparaten.

Die zu untersuchenden Organstücke werden in Alkohol gehärtet.

Einbettung in Paraffin.

1. Einlegen in Anilinöl, bis das Präparat durchsichtig ist. (Im verschlossenen Glase in den Paraffinschrank stellen.)

2. Einlegen in Xylol, welches so oft gewechselt wird, bis keine Gelbfärbung des Xylols mehr eintritt (ca. 1 Stunde).

3. Abtrocknen mit Filtrierpapier.

4. Einlegen in flüssiges Paraffin (Schmelzpunkt bei 56°), im Thermostaten bei 54°. Das Paraffin wird einmal gewechselt (im ganzen 1—4 Stunden je nach der Größe der Stücke).

5. Ausgießen des flüssigen Paraffins in einen Einbettungsrahmen, nachdem das Präparat darin in der gewünschten Weise fixiert ist. Das Paraffin wird durch Übergießen mit Wasser oder im Eisschrank schnell zum Erstarren gebracht.

Der erstarrte Paraffinblock wird zurecht geschnitten, auf einen Holzblock aufgeschmolzen und mit dem Mikrotom geschnitten, ohne das Messer zu befeuchten.

Die einzelnen Schnitte werden direkt vom Messer auf einen ganz dünn mit Glyzerin-Eiweiß bestrichenen und mit Wasser befeuchteten Objektträger gebracht. Durch Schräghalten läßt man das Wasser ablaufen, entfernt den Rest mit Fließpapier und bringt dann die Objektträger mit den Schnitten

auf den Brütofen. Nach zirka 12 Stunden werden die Schnitte in folgender Weise weiter behandelt.

1. Entfernung des Paraffins durch Einlegen in Xylol.
2. Einlegen in absoluten Alkohol.
3. „ „ 96%igen Spiritus.
4. „ „ Wasser.
5. Färbung.
6. Auswaschen in Wasser.
7. Entwässern in Alkohol.
8. Aufhellen in Xylol.
9. Einlegen in Kanadabalsam.

Glyzerin-Eiweißlösung.

Ein abgemessenes Quantum Eiweiß wird zu Schaum geschlagen und mit dem gleichen Volumen reinen Glyzerins versetzt. Dann wird die Masse filtriert.

Einbetten in Celloidin.

Man stellt sich zwei Celloidinlösungen her, eine dünnflüssige und eine dickflüssige von Sirupkonsistenz, indem man Celloidin in Alkohol und Äther $\overline{aa}$ löst.

Die Stückchen, welche nicht dicker als 1 cm^3 sein sollen, kommen aus dem absoluten Alkohol auf wenigstens 24 Stunden in das dünnflüssige, dann ebenso lange in das dickflüssige Celloidin. Darauf werden sie auf einen Kork gebracht, mit der dickflüssigen Lösung allmählich übergossen, bis sie reichlich davon eingehüllt sind, und, um zu schnelles Verdunsten zu verhüten, mit einer Glasglocke bedeckt. — Ist das Celloidin genügend eingetrocknet, so werden die Objekte für 24 Stunden in 80% Alkohol gelegt.

Beim Schneiden werden das Messer und Objekt mit Alkohol befeuchtet.

Weitere Behandlung der Schnitte:

1. Einlegen in verdünnten Alkohol.
2. Färben.
3. Entwässern in 96%, dann in absolutem Alkohol.
4. Aufhellen in Xylol.
5. Einlegen in Kanadabalsam.

Universelle Färbemethoden zur Darstellung der Bakterien in Schnitten.

Methode von *Löffler*.

1. Färbung in *Löfflers* Methylenblau 3—5 Minuten.
2. Differenzieren in 0·5—1% Essigsäure 10—20 Sekunden.
3. Entwässern in Alkohol; Xylol, Kanadabalsam.

Färbung mit Gentianaviolett.

1. Färbung in 2%iger wässeriger oder alkoholischer Gentianaviolettlösung, bis der Schnitt dunkelviolett erscheint.
2. Auswaschen in absolutem Alkohol, bis der Schnitt eine hellviolette Färbung annimmt.
3. Aufhellen in Xylol, Einlegen in Kanadabalsam.

Methode von *Pfeiffer*.

1. Färbung in Karbolfuchsin 1 : 10, 30 Minuten.
2. Differenzieren in 60%igem Alkohol, dem 1 Tropfen Essigsäure zugesetzt ist, bis die Schnitte grauviolett aussehen.
3. Entwässern in absolutem Alkohol; Xylol, Kanadabalsam.

Spezielle Färbemethoden.

*Gram*sche Färbung.

1. Färbung mit Anilinwasser-Gentianaviolett (cf. Seite 274) 5—30 Minuten.
2. *Lugol*sche Lösung (cf. Seite 269) 1—2 Minuten.
3. Differenzieren in absolutem Alkohol, bis der Schnitt nahezu farblos ist.
4. Wassersplülung.
5. Färbung mit Bismarckbraun (cf. S. 269) 1—2 Minuten.
6. Einlegen in 60%, dann in absoluten Alkohol, Xylol, Kanadabalsam.

Methode von *Kühne-Weigert*.

1. Färben in Lithionkarmin 2—3 Minuten.
2. Abspülen in 3%igem salzsaurem Spiritus (70%).
3. „ in Aqua destillata.
4. Färben mit Kristallviolett 5—10 Minuten.

5. Behandeln mit *Lugol*scher Lösung bis zur Schwarzfärbung (zirka 1—2 Minuten).

6. Abtrocknen mit Fließpapier.

7. Behandeln mit Anilinöl, bis kein Farbstoff mehr abgeht.

8. Aufhellen mit Xylol, Einlegen in Kanadabalsam.

Lithionkarmin:

Karmin 2·5—5·0.

Gesättigte wässerige Lösung von Lithion carbonicum 100·0.

Kristallviolett:

Stammlösung:	Kristallviolett . .	1·0
	Alkohol	10·0

Farblösung: 1 cm^3 der Stammlösung wird mit 10 cm^3 Aqua dest. verdünnt und mit 1 Tropfen Salzsäure versetzt.

Färbung der Tuberkelbazillen.

a) 1. Färbung in Karbolfuchsin 30 Minuten (im Brutschrank bei 37°).

2. Wasserspülung.

3. Entfärben in 3%igem salzsaurem Spiritus (70%).

4. Wasserspülung.

5. Nachfärbung mit verdünnter Methylenblaulösung 2 bis 3 Minuten.

6. Abspülen in Wasser.

7. Alkohol, Xylol, Kanadabalsam.

b) 1. Färbung in Karbolfuchsin 30 Minuten.

2. Entfärbung in 20% Salpetersäure 10 Sekunden und 60% Alkohol, bis der Schnitt farblos erscheint.

3. Abspülen in Wasser.

4. Nachfärbung mit verdünnter Methylenblaulösung 2 bis 3 Minuten.

5. Abspülen in Wasser.

6. Alkohol, Xylol, Kanadabalsam.

Färbung der Ducreyschen Bazillen.

a) Methode von *Petersen* für Paraffinschnitte.

1. Färbung in *Unnas* Methylenblaulösung 24 Stunden.

2. Anilinöl zirka 3—4 Stunden.

3. Anilin-Xylol $1^1/_2$—3 Stunden.
4. Xylol, Kanadabalsam.

b) Methode von *Krefting* für Celloidinschnitte.

1. Färbung auf dem Objektträger in *Unnas* Methylenblau 2—5 Minuten.
2. Abtrocknen mit Fließpapier.
3. Anilin-Xylol 2—3 Stunden.
4. Xylol, Kanadabalsam.

Unnas Methylenblau.

Methylenblau,	
Kal. carbonic. $\overline{aa}$	1·0
Aq. dest.	100·0
Spirit.	20·0
M. coque ad reman. Adde	
Methylenblau,	
Borac. $\overline{aa}$	1·0
in Aq. dest.	100·0
soluta misce.	

IV. Kulturverfahren.

Bereitung der Nährböden.

Kartoffeln als Nährboden.

Die Kartoffeln werden unter der Wasserleitung mit der Bürste gereinigt, die sogenannten Augen ausgeschnitten, geschält, in Scheiben geschnitten, in *Petri*sche Schalen gelegt und an 3 aufeinanderfolgenden Tagen je 1 Stunde im Dampftopf sterilisiert.

Man kann auch aus der geschälten Kartoffel mit einem weiten Korkbohrer einen Zylinder ausstechen und diesen durch einen schrägen Schnitt halbieren. Die so erhaltenen Kartoffelkeile kommen mit der Basis nach unten in ein weites Reagenzglas, welches 1 *cm* oberhalb der Kuppe eine Einschnürung besitzt (*Roux*sches Röhrchen) und werden in der oben angegebenen Weise im Dampftopf sterilisiert. Anstatt der *Roux*schen Röhrchen kommen auch gewöhnliche Reagenzgläser zur Verwendung, in deren Kuppe sich etwas Watte zum Auf-

saugen des Kondenswassers befindet. Sicher alkalische Kartoffeln werden durch 10 Minuten langes Kochen in Sodalösung bereitet.

Nährbouillon.

1. Fettfreies, geschabtes Fleisch wird mit der doppelten Menge Wasser übergossen.

2. Zu dem Aufguß wird 1% Pepton und $^1/_2$% Kochsalz (auf die Wassermenge berechnet) zugesetzt.

3. Kochen im Dampftopf 1—2 Stunden pro Liter Flüssigkeit.

4. Filtrieren durch ein feuchtes Faltenfilter.

5. Neutralisieren mit gesättigter Sodalösung oder 25% Natronlauge, bis blaues Lackmuspapier nicht mehr gerötet, rotes gerade gebläut wird.

6. Kochen im Dampftopf $^1/_2$—1 Stunde pro Liter Flüssigkeit

7. Filtrieren. Das Filtrat muß vollkommen klar sein.

8. Prüfung der Reaktion; muß dieselbe korrigiert werden, so ist nochmaliges Kochen und Filtrieren erforderlich.

9. Abfüllen in mit Watte verschlossene Reagenzgläser, welche im Trockenschrank bei 160° $^1/_2$ Stunde lang sterilisiert sind.

10. Sterilisieren im Dampftopf an 3 aufeinanderfolgenden Tagen je $^1/_2$ Stunde. (In der Zwischenzeit bei Zimmertemperatur aufbewahren.)

Nähragar.

1.—8. wie bei Nährbouillon.

9. Zusatz von 2% feingeschnittenem oder pulverisiertem Agar; zur Auflösung 3—5 Stunden pro Liter Flüssigkeit kochen.

10. Klären durch Zusatz des Weißen eines Hühnereies, das in 50 cm^3 Wasser eingerührt ist, zu dem auf 50° abgekühlten Nährboden.

11. Kochen 2 Stunden pro Liter.

12. Filtrieren im Dampftopf (Trichter sorgfältig mit Fließpapier bedecken!).

13. Abfüllen in sterile Röhrchen, und zwar in Mengen von 15 cm^3 in Röhrchen (hochgefüllte Röhrchen), welche später

zum Gießen von Platten verwendet werden sollen, und in Mengen von 5 cm^3 zur Herstellung schräg erstarrter Agarröhrchen.

14. Sterilisieren wie Nährbouillon.

Nährgelatine.

1.—4. wie Nährbouillon.
5. Zusatz von 10—15% (im Sommer) Gelatine.
6. Auflösen bei gelinder Wärme.
7. Neutralisieren cf. Nährbouillon, Abs. 5.
8. Klären (cf. Nähragar, Absatz 10).
9. Kochen $^3/_4$ Stunden.
10. Prüfung der Reaktion.
11. Filtrieren im Heißwassertrichter.
12. Abfüllen in Röhren.
13. Sterilisieren im Dampftopf an 3 aufeinanderfolgenden Tagen je $^1/_4$ Stunde.

Nach jedesmaligem Sterilisieren sofort im Eisschrank erstarren lassen und dann bei Zimmertemperatur halten.

Zur Herstellung der Nährböden kann anstatt Fleisch auch *Liebigs* Fleischextrakt in Mengen von 1% verwendet werden.

Der Zusatz von Zucker (2%), Glyzerin (4—6—8%) und Farbstoffen zu den Nährböden erfolgt stets erst vor dem Abfüllen in Röhrchen.

Häufig ist es erforderlich, dem Nährboden eine bestimmte Alkaleszenz zu geben. Man fügt dann die notwendige Alkalimenge nach Herstellung des Lackmusneutralpunktes hinzu. So wird zur Züchtung der Choleravibrionen der Gelatine und dem Agar-Agar nach Herstellung des Lackmusneutralpunktes auf je 100 cm^3 3 cm^3 einer 10%igen Lösung von kristallisiertem kohlensauren Natron zugesetzt.

Peptonlösung.

a) Herstellung der Stammlösung.

Pepton sicc.	100·0
Kochsalz	100·0
Kalium nitrat	1·0
Kristall. kohlens. Natron .	2·0
Aqua dest.	1000·0

In der Wärme lösen, in Kölbchen zu je 100 *cm*³ abfüllen, sterilisieren.

b) Herstellung der Peptonlösung.

Von der Stammlösung wird eine Verdünnung von 1 + 9 Wasser hergestellt, zu je 10 *cm*³ in Röhrchen gefüllt und sterilisiert!

Milch.

Frische, auf Lackmuspapier amphoter reagierende, entrahmte Milch wird in sterilisierte Reagenzgläser gefüllt und am ersten Tage 1 Stunde, an den beiden folgenden Tagen je eine $^1/_2$ Stunde im strömenden Dampf sterilisiert.

Brot.

Getrocknetes Brot wird fein zerrieben, in *Erlenmeyer*sche Kölbchen gefüllt, mit Wasser zu einem dicken Brei angerührt und an 3 aufeinanderfolgenden Tagen je $^1/_2$ Stunde im Dampftopf sterilisiert.

*Conradi-Drigalski*scher Nährboden.

Man versetzt 2 *l* 3%igen Nähragar mit 1% Nutrose und einer Lösung, welche aus 26 *g* Milchzucker und 260 *cm*³ Lackmuslösung *(Kubel & Tiemann)* besteht und in folgender Weise hergestellt ist: die Lackmuslösung wird 10 Minuten im Dampftopf gekocht, dann wird der Milchzucker hinzugefügt und das Gemisch weitere 10 Minuten gekocht. Die Lackmus-Milchzuckerlösung wird auf 40 bis 50° abgekühlt und dem auf 70° abgekühlten Agar zugesetzt. Dann wird der Nährboden mit soviel heißer 10%iger Sodalösung vermischt, bis der Schaum, welcher beim Schütteln entsteht, anfängt, sich nach einigen Minuten deutlich blau zu färben. Die Alkaleszenz entspricht einem Zusatz von 4 *cm*³ 10%iger Sodalösung auf 1 *l* Agar, auf den Lackmusneutralpunkt bezogen. Schließlich wird pro 100 *cm*³ Nährboden 1 *cm*³ einer 1‰ Kristallviolettlösung zugesetzt und diskontinuierlich sterilisiert. Der Nährboden muß nach dem Erstarren einen blauvioletten Farbenton besitzen.

*Piorkowski*scher Nährboden.

Zwei Tage alter Harn vom spezifischen Gewicht 1020, welcher spontan alkalisch geworden ist, wird mit 0·5% Pepton und 3·3% Gelatine versetzt, 40 Minuten im Wasserbade gekocht, filtriert, in Röhrchen gefüllt, sofort 15 Minuten und am nächsten Tage 10 Minuten im Dampftopf sterilisiert.

Neutralrotagar.

Zu je 100 *cm*³ Agar werden vor dem Einfüllen in Röhrchen 0·3 *g* Traubenzucker und 1 *cm*³ einer gesättigten, wässerigen Neutralrotlösung zugesetzt.

*Petruschky*sche Lackmusmolke.

Erwärmte Milch wird mit der gleichen Menge Wasser verdünnt und mit soviel verdünnter Salzsäure versetzt, daß alles Kasein ausfällt. Man prüft zunächst an einer abgemessenen Probe, wieviel Salzsäure nötig ist, um gerade die Gerinnung der Milch herbeizuführen, und berechnet dann die zur Koagulierung der gesamten Flüssigkeit erforderliche Säuremenge. Alsdann wird das Kasein abfiltriert, das Filtrat mit Sodalösung neutralisiert, 1—2 Stunden im Dampftopf gekocht und filtriert. Nun wird wieder die Reaktion geprüft, nochmals genau neutralisiert und gekocht. Dann wird die Molke mit steriler Lackmustinktur bis zur Violettfärbung versetzt, in Röhrchen gefüllt und sterilisiert.

Die Herstellung der Lackmusmolke ist schwierig, es empfiehlt sich, dieselbe von der Firma *Kahlbaum* in Berlin zu beziehen.

*Barsikow*scher Nährboden.

Nutrose	1·0
Milchzucker	1·0
Kochsalz	0·5
Aq. dest.	100·0
Adde Lackmuslösung . . .	5·0

Oder anstatt Milchzucker 1·0 Traubenzucker 1·0, oder Traubenzucker und Milchzucker āā 1·0.

Die Zucker-Nutrose-Kochsalzlösung wird 20 Minuten im Dampftopf gekocht, filtriert, nach Hinzufügen der Lackmuslösung in Reagenzgläser gefüllt und 20 Minuten sterilisiert.

Blutagar.

Blutagar wird nach *Pfeiffer* mit Menschen- oder Taubenblut bereitet. Das erstere gewinnt man durch Einstich in die Fingerbeere oder das Ohrläppchen nach Desinfektion der Haut mit Alkohol und Äther, das letztere aus der großen Flügelvene der Taube, die man nach Entfernung der Federn und nach Reinigung der Haut anschneidet. Der hervorquellende Blutstropfen wird mit der Platinöse aufgefangen und auf der Oberfläche des erstarrten Agars ausgestrichen. Der Nährboden kommt zur Prüfung auf Sterilität 24 Stunden lang in den Brutofen bei 37°.

Blutagar nach *Czaplewski*.

Unter aseptischen Kautelen gewonnenes Taubenblut wird in einem *Erlenmeyer*schen Kölbchen mit verflüssigtem, auf 50° abgekühltem Agar unter tüchtigem Umschütteln vermischt, dann wird soviel flüssiger Agar hinzugesetzt, bis der Nährboden eben rötlich erscheint. Nachdem etwaige Blutgerinnsel mit der Platinöse herausgefischt sind, wird der Nährboden sofort in kleine Petrischalen oder Röhrchen, in welchen man ihn schräg erstarren läßt, abgefüllt. Die Platten werden vor dem Gebrauch umgekehrt und geöffnet kurze Zeit im Thermostaten bei 50° getrocknet.

Agar *Hesse*.

5 *g* Kochsalz, 10 *g* Agar-Agar, 30 cm^3 Glyzerin, 5 cm^3 Normal-Natriumkarbonatlösung werden mit 1000 cm^3 Wasser übergossen und im Dampftopf 2 Stunden gekocht. Darauf werden 5 *g* mit etwas Wasser angerührter Nährstoff *Heyden* zugesetzt und das Gemisch $^1/_4$ Stunde im Wasserbade gekocht. Dann wird filtriert, in Reagenzgläser gefüllt und in der üblichen Weise sterilisiert.

Blutserum.

Man gewinnt das Blut, wenn möglich, unter aseptischen Kautelen, indem man dasselbe aus einer in der Karotis des Tieres eingebundenen Kanüle durch einen sterilen Gummischlauch direkt in einen sterilisierten, sicher verschließbaren Glaszylinder strömen läßt. Das Gefäß mit dem Blut kommt sofort in den Eisschrank (Temperatur 7—8°); nach Gerinnung des Blutes wird der Blutkuchen mit einem sterilen Glasstab von der Glaswand abgelöst. Nach 1—3 Tagen wird das abgeschiedene Serum mittelst steriler Pipette entnommen und in Petrischalen (zirka 20 cm^3) und in Reagenzgläser (je 5 cm^3) übertragen. Serum, das nicht sofort verarbeitet wird, kann in einem sterilen *Erlenmeyer*-Kolben gefüllt und nach Zusatz von etwa 2% Chloroform im Eisschrank aufbewahrt werden. Die Petrischalen und Reagenzgläser werden, um das Serum erstarren zu lassen, auf 2 Stunden in den auf 60—65° eingestellten Thermostaten gebracht. Das erstarrte Serum ist durchsichtig und von bernsteingelber Farbe. Durch Einstellen in den Brutschrank bei 37° wird dann die Sterilität des Nährbodens geprüft.

Ist es nicht möglich, das Blut steril zu entnehmen, so wird es beim Schlachten, nachdem die Umgebung der Stichwunden vorher gereinigt oder wenigstens angefeuchtet ist, in einem sterilen Glaszylinder aufgefangen. Das zuerst ausströmende Blut läßt man fortlaufen, weil mit demselben Haare etc. aus der Umgebung der Wunde mit fortgespült werden. Die weitere Behandlung des Blutes geschieht in der oben angegebenen Weise. Das Serum muß jedoch entweder in flüssigem Zustande zur Sterilisation eine Woche lang täglich 4—5 Stunden im Thermostaten bei einer Temperatur von 55—58° gehalten werden oder nach dem Erstarren noch an 3 aufeinanderfolgenden Tagen je 2 Stunden bei 65—68° sterilisiert werden. Um zu starkes Austrocknen des Serums zu verhüten, wird gleichzeitig ein Gefäß mit Wasser in den Thermostaten gestellt. Bei der nachfolgenden Prüfung im Brutofen erweist sich dann gewöhnlich die größere Zahl der Platten und Röhrchen keimfrei.

*Löffler*sches Serum.

3 Teile Rinder- oder Hammelserum werden mit einer leicht alkalischen, 1%igen Traubenzucker-Bouillon vermischt. Die Gerinnung und Sterilisierung der Mischung erfolgt im Dampftopf, der, um die Bildung von Schaumblasen im Nährboden zu vermeiden, so langsam angewärmt wird, daß das Serum erstarrt ist, ehe das Wasser zu kochen beginnt. *Neisser* hat einen speziellen Serumofen angegeben. Die Platten werden auf diese Weise nicht immer keimfrei und müssen daher vor dem Gebrauch durch Einstellen in den Brutschrank bei 37° auf Sterilität geprüft werden. Serumröhrchen werden noch an den beiden folgenden Tagen je $^1/_4$ Stunde im Dampftopf sterilisiert. Die Platten müssen, da viel Kondenswasser ausgepreßt wird, umgekehrt stehend aufbewahrt werden.

Blutserum-Agar.

Flüssiges Blutserum, das entweder steril gewonnen oder durch diskontinuierliche Sterilisation bei 55° (8 Tage je 4 Stunden) keimfrei gemacht ist, wird auf 40—50° erwärmt und mit 2—3%igem Agar oder Glyzerinagar, welcher im Wasserbade aufgeschmolzen und auf 50° abgekühlt ist, im Verhältnis 1 : 2 gemischt. Das Gemisch gießt man in Petrischalen aus oder läßt es in Röhrchen schräg erstarren.

Menschenblutserum-Agar nach *Wertheim*.

Menschenblut wird durch Aderlaß oder aus der Plazenta gewonnen. Nach Abnabelung des Kindes wird das mütterliche Ende der Nabelschnur mit Sublimat desinfiziert, mit destilliertem Wasser abgespült und oberhalb der Unterbindungsstelle durchschnitten. Das ausströmende Blut wird in sterilisierten Kölbchen aufgefangen, das aus dem Blut abgeschiedene Serum wird in flüssigem Zustande und unter Chloroformzusatz aufbewahrt und zur Herstellung des Nährbodens kurz vor dem Gebrauch in der oben angegebenen Weise mit Agar im Verhältnis 1 : 2 oder 1 : 3 versetzt. Das Gemisch läßt man in Röhrchen schräg erstarren.

Aszitesagar.

Die durch Punktion gewonnene seröse Flüssigkeit wird mit 2—3% Chloroform versetzt und kühl und dunkel unter öfterem Umschütteln aufbewahrt. Ist die Flüssigkeit wasserklar geworden, so wird sie mit steriler Pipette abgehoben und in Reagenzgläser gefüllt. Vor dem Gebrauch wird das Chloroform durch Erwärmen auf 35° (im Wasserbade oder Brutschrank) verjagt. Die Mischung mit dem Agar geschieht in der gleichen Weise wie beim Blutserumagar.

*Kiefer*scher Aszitesagar.

Die auf 50° erwärmte Aszitesflüssigkeit wird kurz vor Gebrauch zu gleichen Teilen mit einer aufgeschmolzenen und auf 50° abgekühlten, neutralen Glyzerin-Agarlösung gemischt, die 3·5% Agar, 5% Pepton, 0·5 NaCl, 2% Glyzerin enthält, und in Petrischalen ausgegossen. Ist die Aszitesflüssigkeit stark alkalisch, so wird der Agar nicht neutralisiert oder so stark angesäuert, daß die Mischung schwach alkalisch reagiert.

Nutrose-Nährboden von *Wassermann*.

Schweineblutserum . . .	15·0 cm^3
Aq. dest.	30—40 cm^3
Glyzerin	2—3 cm^3
Nutrose	0·8 g

Diese Mischung wird unter beständigem Schütteln an 2 aufeinanderfolgenden Tagen 15 Minuten über freier Flamme gekocht und kann dann steril aufbewahrt werden. Vor dem Gebrauch wird sie auf 50—60° erwärmt und nach Vermischung mit der gleichen Menge verflüssigten, auf 50—60° abgekühlten Agars in *Petri*sche Schalen ausgegossen.

Bierwürze-Nährböden.

Bierwürze läßt man nach der Sterilisation im Dampftopf längere Zeit absetzen, gießt dann die überstehende klare Flüssigkeit in Röhrchen und sterilisiert nochmals. Durch Zusatz von 10% Gelatine oder 2% Agar bereitet man Bierwürze-Gelatine bzw. Agar. Der Nährboden wird nicht neutralisiert.

Alle Nährböden müssen vor ihrer Verwendung zu Züchtungsversuchen auf Keimfreiheit geprüft werden. Sie werden

zu diesem Zwecke auf 24 Stunden in den Brutschrank gestellt.

Kulturen auf Nährsubstraten, welche mit Gelatine hergestellt sind, dürfen nur einer Bruttemperatur von 20—25° ausgesetzt werden; Agar, Agar-Gemische, Blutserum, Kartoffeln und die flüssigen Nährböden können bei höheren Temperaturen gehalten werden.

Die gebräuchlichsten Kulturmethoden.

Anlegen aërober Kulturen.

Plattenkulturen.

a) Gelatinplattenkulturen.

3 Röhrchen mit Gelatine werden bei einer Temperatur von 30—35° im Wasserbad verflüssigt. Eines derselben faßt man am Kuppenrande zwischen Daumen und Zeigefinger der mit der Volarseite nach oben gekehrten linken Hand, hält es möglichst schräg, dreht den Wassertropfen heraus und nimmt ihn derart zwischen 3. und 4. Finger der linken Hand, daß der im Reagenzglase gewesene Teil die Haut nicht berührt. Dann wird mit der schreibfederähnlich gefaßten, ausgeglühten und wieder abgekühlten Platinöse das Impfmaterial in die Gelatine übertragen. Flüssiges Material wird direkt in die Gelatine ausgeschüttelt, festes an der Innenwand des Glases verrieben und allmählich in die Gelatine gespült. Nachdem der Wattepfropf abgebrannt und wieder aufgesetzt ist, wird durch vorsichtiges Neigen und Drehen des Glases das eingebrachte Material möglichst gleichmäßig in dem flüssigen Nährboden verteilt, ohne daß dabei die Gelatine den Watteverschluß berührt. Darauf fast man das Röhrchen wieder in der oben geschilderten Weise, legt ein zweites parallel daneben, öffnet beide und überträgt aus dem ersten je nach dem Bakteriengehalt des Untersuchungsmaterials eine bis mehrere Ösen seines Inhalts in das zweite, verschließt dann wieder die Reagenzgläser, stellt das erste Röhrchen in das Wasserbad zurück und überimpft aus dem zweiten, nachdem dessen Inhalt vorsichtig vermischt ist, mehrere Ösen in ein drittes Röhrchen. Dann gießt man die geimpfte Gelatine nach Abbrennen und Wiederabkühlen des Röhrchenrandes in 3 sterile Petrischalen

aus, deren Deckel dabei nur an einer Seite soweit als nötig geöffnet wird, vermischt den Inhalt nochmals durch vorsichtiges Hin- und Herneigen, bezeichnet die Schalen mit: O (Originalplatte), I. und II. (erste und zweite Verdünnung) und dem Datum der Impfung, läßt sie auf Eis erstarren und bringt sie in den auf 22° eingestellten Thermostaten.

b) Agarplattenkulturen.

Agar kann in derselben Weise geimpft werden wie Gelatine, doch muß derselbe im kochenden Wasser aufgeschmolzen und vor der Impfung auf 50° abgekühlt werden.

II. Oberflächenkulturen.

Das Untersuchungmaterial wird mit der Platinöse auf die Oberfläche des in Petrischalen ausgegossenen und erstarrten Nährbodens gebracht und mit dem parallel der Oberfläche umgebogenen Platindraht oder einem rechtwinklig gebogenen und durch Abbrennen mit Alkohol desinfizierten Glasspatel nach allen Richtungen hin gleichmäßig verteilt. Ist das Impfmaterial reich an Bakterien, so ist es erforderlich, um isolierte Kolonien zu erhalten, dasselbe entweder zuerst in einer sterilen Flüssigkeit (physiologischer Kochsalzlösung oder Bouillon) aufzuschwemmen und eine Öse der Aufschwemmung zur Aussaat zu bringen, oder man geht so vor, daß man mit derselben Öse, ohne sie nochmals mit dem Untersuchungsmaterial in Berührung zu bringen, nacheinander über mehrere (3—4) Platten ausstreicht. — Vor der Impfung werden die Platten, um das Kondenswasser verdunsten zu lassen, umgekehrt und offen einige Zeit in den Brutschrank gestellt. Zur Impfung wird die Petrischale ebenfalls umgekehrt aufgestellt, die Schale wird vom Deckel genommen und, während der Nährboden nach unten sieht, mit dem Untersuchungsmaterial beschickt.

Impfung der in Reagenzgläsern schräg erstarrten Nährböden (Agar, Blutserum etc.).

Eine geringe Menge des Untersuchungsmaterials wird mit der Platinöse bei möglichst schräger Haltung der Röhrchen

auf der Oberfläche des Nährbodens verteilt. Zur Erzielung isolierter Kolonien wird dieselbe Öse auf mehreren Röhrchen hintereinander ausgestrichen.

Stichkulturen.

Man sticht bei horizontaler Haltung des Röhrchens mit einer mit Bakterien beschickten Platinnadel senkrecht in den gerade erstarrten Nährboden ein.

Schüttelkulturen.

Man schmilzt den Nährboden im Wasserbade auf (Agar wieder auf 50° abkühlen lassen), trägt eine Öse Reinkultur ein, schüttelt gut um und läßt den Nährboden in senkrechter Stellung des Röhrchens wieder erstarren.

Die Impfung flüssiger Nährböden

geschieht ebenso wie die der aufgeschmolzenen Gelatine.

Anlegen anaërober Kulturen.

Es ist empfehlenswert, den Nährböden, welche zur Züchtung anaërob wachsender Bakterien dienen sollen, reduzierende Substanzen, wie 1—2% Traubenzucker oder 0·3—0·5% ameisensaures Natron oder 0·1% indigschwefelsaures Natron zuzusetzen.

Zur Züchtung unter Luftabschluß stehen verschiedene Methoden zur Verfügung.

A. Mechanischer Abschluß der Luft.

1. Auf die geimpften Agar- oder Gelatineplatten wird, wenn der Nährboden eben zu erstarren beginnt, ein dünnes Blatt von Glimmer oder Marienglas gelegt, welches mindestens ein Drittel der Oberfläche in der Mitte bedeckt.

2. Impfung in hoher Schicht. Die hochgefüllten Agar- beziehungsweise Gelatineröhrchen werden zur Austreibung der Luft $^1/_2$ Stunde im Wasserbade gekocht, schnell abgekühlt und mit dem Untersuchungsmaterial infiziert. Nach dem Erstarren (auf Eis) folgt Überschichtung mit Agar beziehungsweise Gelatine.

Zur Untersuchung wird das Reagenzglas zertrümmert und der Nährboden mit sterilem Messer in Scheiben geschnitten.

Zur Fortzüchtung von Reinkulturen bedient man sich der Stichkultur in hochgefüllte, ausgekochte und schnell auf Eis erstarrte Agar- beziehungsweise Gelatineröhrchen, welche ebenfalls nach der Impfung mit sterilem Nährboden überschichtet werden. Die Impfung muß mit einer langen, bis in die tiefen Schichten reichenden Nadel geschehen.

Von Stichkulturen wird das Untersuchungsmaterial von oben her aus den tieferen Partien entnommen, ohne das Röhrchen zu zertrümmern.

B. Entfernung der Luft mittelst der Luftpumpe.

Große Reagenzgläser werden an einer Stelle ihres oberen Drittels kapillar ausgezogen, mit dem Nährmedium gefüllt (die verengte Stelle muß dabei trocken bleiben), sterilisiert und in der üblichen Weise infiziert. Darauf wird der Wattepropf tief in den Hals des Reagenzglases eingestoßen und darüber ein luftdicht schließender Gummistopfen gesetzt, in dessen Bohrung ein rechtwinklig gebogenes kurzes Glasrohr steckt, das mit einer Luftpumpe oder Wasserstrahlpumpe in Verbindung steht. Während des Evakuierens steht die Nährlösung im Wasserbade von 30—35° bei Gelatine, von 42° bei Agar. Sobald die Luft ausgepumpt ist (nach zirka 15 Min.), wird an der verengten Stelle zugeschmolzen.

C. Entfernung des Sauerstoffs der Luft auf chemischem Wege.

Das infizierte Röhrchen wird mit lose aufgesetztem Wattepfropfen in ein weites, mit einem Drahtgestell versehenes Rohr gestellt, das eine alkalische Pyrogalluslösung enthält. (Auf 100 cm^3 Luftraum 1 *g* Pyrogallussäure, dazu kurz vor dem Schließen des Gefäßes 10 cm^3 einer Lösung von 1 Teil Liq. kal. caustic. in 10 Teilen Wasser.) Das äußere Gefäß wird mit einem Gummistopfen luftdicht verschlossen, der mit flüssigem Paraffin abgedichtet wird. Die Absorption des Sauerstoffes beansprucht zirka 24 Stunden; während dieser Zeit läßt man die Kulturen kalt stehen.

Das Verfahren ist auch für Plattenkulturen verwertbar, für die man einen Exsikkator mit aufgeschliffenem Deckel benutzt.

D. Ersatz der Luft durch Wasserstoff.

Das den infizierten Nährboden enthaltende Röhrchen oder Kölbchen ist mit doppelt durchbohrtem Gummistopfen verschlossen. Durch die Bohrung gehen zwei rechtwinklig gebogene Röhrchen, deren eines bis in den Nährboden hineinreicht, während das andere dicht unterhalb des Stopfens endet. Die äußeren Schenkel der Röhrchen sind zu Kapillaren ausgezogen. Das längere Rohr steht mit einem *Kipp*schen Apparat in Verbindung, aus dem Wasserstoff zugeleitet wird, bis der Sauerstoff ausgetrieben ist. Alsdann werden die Kapillaren zugeschmolzen.

Zur Kultur auf Platten benutzt man entweder die *Kitasato*schen Schalen oder den *Botkin*schen Apparat; der letztere besteht aus einer tiefen Glasschale, in der sich eine auf einem Metallkreuz ruhende Glasglocke befindet. In den Spalt, welcher auf diese Weise zwischen unterem Raum der Glasglocke und Boden der Glasschale entsteht, werden zwei einander gegenüberstehende, U-förmig gebogene Röhrchen geführt, welche zur Zuführung des Wasserstoffgases bzw. Ableitung der verdrängten Luft dienen und nach vollständiger Austreibung der letzteren zugeschmolzen werden. In die Schale wird zur Absperrung der äußeren Luft flüssiges Paraffin gegossen. Die geimpften Platten stehen offen auf einem unter der Glasglocke befindlichen Drahtgestell. Innerhalb der Glasglocke befindet sich eine Schale mit alkalischer Pyrogallus-lösung.

V. Die Prüfung der biologischen Eigenschaften der Bakterien.

Der Nachweis peptonisierender Fermente erfolgt durch Gelatinestichkultur; Gelatine wird durch Einwirkung des peptonisierenden Fermentes verflüssigt.

Der Nachweis des Gärungsvermögens wird durch Stichkultur in Zuckeragar oder durch Impfung in Zuckerbouillon, welche in Gärungskölbchen gefüllt ist, geführt. — Im Lufttrockenschrank sterilisierte Gärungskölbchen werden mit steriler 2%iger Traubenzuckerbouillon gefüllt und vor der ung nochmals ½ Stunde strömendem Dampf ausgesetzt.

Nachweis von Säure- und Alkalibildung geschieht durch Zusatz eines Indikators, z. B. Lackmustinktur zum neutralisierten Nährboden. Diesem Zwecke dienen besonders *Petruschky*sche Lackmusmolke und der *Barsiekow*sche Nährboden.

Nachweis der Indolbildung cf. Seite 93.

Nachweis von Schwefelwasserstoffbildung. Ein Stückchen angefeuchtetes Bleipapier wird zwischen Watteropf und Kulturröhrchen eingeklemmt, so daß es in das letztere hineinragt. Schwarzfärbung des Papiers zeigt H_2S-Bildung an.

Nachweis des Reduktionsvermögens. Den sterilisierten Nährböden wird ein Farbstoff zugesetzt, welcher sich durch Reduktion entfärbt (Methylenblau, Lackmuslösung, Neutralrot).

Prüfung auf Sauerstoffbedürfnis. Anlegen von Kulturen in hoher Schicht (cf. Seite 292).

Prüfung auf Giftbildung. Nachweis extrazellulärer Gifte: Die Kulturflüssigkeit, welche die Gifte gelöst enthält, wird keimfrei filtriert* und Versuchstieren in abgemessener Dosis injiziert. — Nachweis intrazellulärer Gifte: Die Bakterien werden auf festen Nährböden gezüchtet und abgetötet, dann werden sie mit einer sog. Normalöse (2 *mg* Inhalt) ohne Beimischung vom Nährboden entnommen und in einer abgemessenen Menge steriler Flüssigkeit aufgeschwemmt. Von dieser wird, eventuell nach weiterer Verdünnung, eine bestimmte Menge zum Tierversuch benutzt. Auf diese Weise kann man 1 ganze, $^1/_{100}$, $^1/_{1000}$ etc. Öse injizieren.

Die Abtötung der Bakterien erfolgt durch 2stündiges Einstellen in den Thermostaten bei 60° oder durch Chloroformdämpfe. Der Wattepfropf der Kulturröhrchen wird an seiner Unterseite mit Chloroform befeuchtet, dann werden die Röhrchen mit doppelter Gummikappe verschlossen und eine bis mehrere Stunden im Brutschrank bei 37° gehalten. Vor Anstellung des Versuches wird die Abtötung der Bakterien durch Überimpfung auf einen anderen Nährboden, der steril bleiben muß, festgestellt.

---

* Anmerkung. Man benutzt zum Filtrieren keimdichte Filter (Chamberlandfilter, Kieselgurfilter, Filter aus Infusorienerde etc.), durch welche die Flüssigkeit mit Hilfe der Wasserstrahlpumpe durchgesaugt wird.

VI. Methoden des Tierversuchs.

1. Kutane Impfung.

Das Untersuchungsmaterial wird mit einem sterilen Instrument in die rasierte, desinfizierte und von dem Desinfiziens wieder befreite, unverletzte oder leicht skarifizierte Haut eingerieben.

2. Subkutane Impfung.

a) Impfung durch Einspritzung. Flüssiger Impfstoff wird direkt, fester nach Aufschwemmung in steriler physiologischer Kochsalzlösung oder Bouillon mit *Pravaz*scher Spritze subkutan injiziert.

b) Impfung in eine Hauttasche. Die Haut wird nach der Desinfektion mit einer Pinzette aufgehoben, in die entstehende Falte wird mit der Scherenspitze ein Einschnitt gemacht und das Untersuchungsmaterial in die Hauttasche geschoben. Die Wunde wird, wenn nötig, mit Kollodium verschlossen. Bei Mäusen und Ratten impft man in der Regel dicht oberhalb der Schwanzwurzel, Meerschweinchen an der Bauch- oder Brustseite, Kaninchen an der Innenseite des Ohres.

3. Impfung in die großen Körperhöhlen.

Nachdem die Haut mit einem kleinen Scherenschnitt gespalten ist, wird das Impfmaterial mit einer mit stumpfer Kanüle versehenen Spritze injiziert. Am Bauch wird in der Mittellinie, an der Brust am oberen Rand einer Rippe eingestoßen.

Impfung in die Blutbahn.

Bei Kaninchen injiziert man in eine der großen Randvenen des Ohres, bei größeren Tieren in die Vena jugularis.

Impfung in die vordere Augenkammer cf. S. 11.

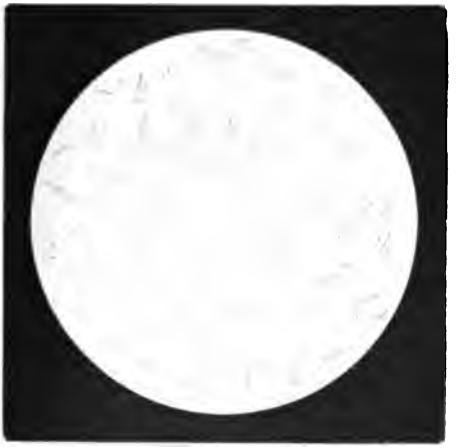
Impfung durch Fütterung.

Das Untersuchungsmaterial wird mit Nahrungsmitteln vermischt verfüttert.

Druck von Gottlieb Gistel & Cie., Wien, III., Münzgasse 6.

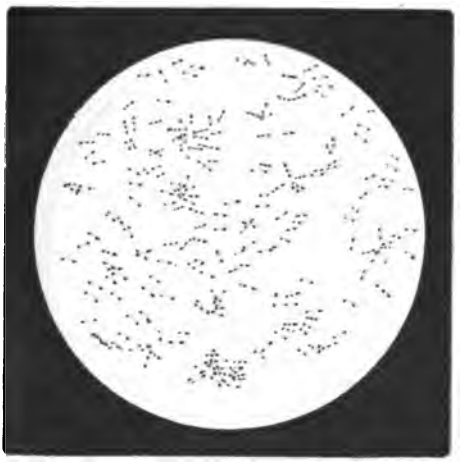
Taf. I.

Fig. 1.



Diphtheriebazillen von Serumplatte. Färbung nach *Roux*. Vergr. 1 : 1000.

Fig. 2.



Diphtheriebazillen von Serumplatte. Färbung nach *Neisser*. Vergr. 1 : 1000.

Taf. II.

Fig. 13.

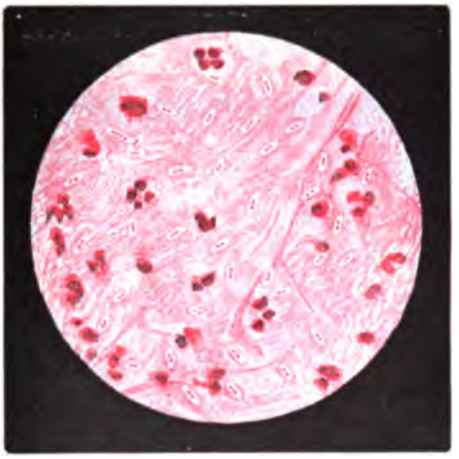
Ausstrichpräparat aus Sputum mit zahlreichen Tuberkelbazillen.
Färbung nach *Ziehl-Nielsen*.

Fig. 14.

Ausstrichpräparat aus pneumonischem Sputum, gefärbt nach *Gram*.

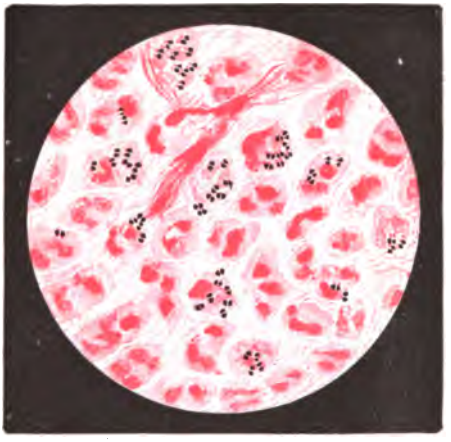
Taf. III.

Fig. 14 *a*.



Ausstrichpräparat aus pneumonischem Sputum, gefärbt mit verdünntem Karbolfuchsin.

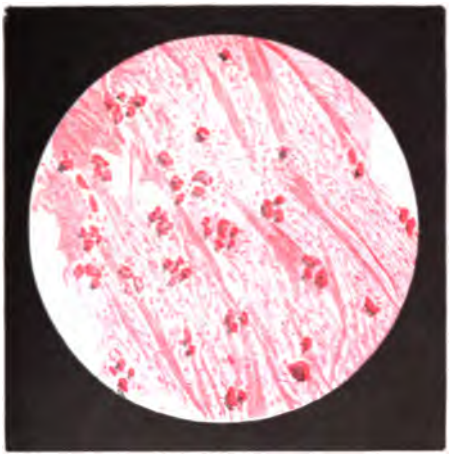
Fig. 15.



Ausstrichpräparat aus Bronchialsputum bei katarrhalischer Bronchitis. (Präparat von Prof. *Kolle*.) Färbung mit verdünntem Karbolfuchsin. Vergr. 1 : 1000.

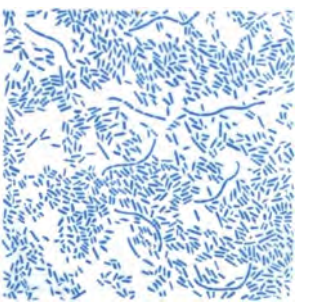
Taf. IV.

Fig. 16.



Ausstrichpräparat von Influenzabazillen im Lungensputum. Fuchsinfärbung. (Nach einem Präparat von Prof. *Kolle*, gezeichnet von *Landsberg*, Berlin.)

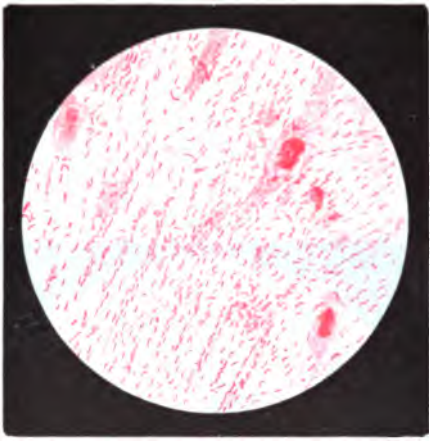
Fig. 29.



Typhusbazillen (Reinkultur).

Taf. V.

Fig. 30.



Ausstrichpräparat aus Choleradejekten. Schleimflocke, fast eine Reinkultur von Kommabazillen enthaltend. Fischzugartige Anordnung. Färbung mit verdünnter Karbolfuchsinlösung. Vergr. 1 : 500.

Fig. 34.

Harnsäure.

Taf. VI.

Fig. 36.

Ammoniumurat.

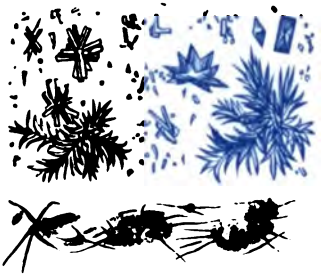
Taf. VII.

Fig. 45.

Schwangerschaftsniere.
Eklampsie. — Hämatoidinkristalle.

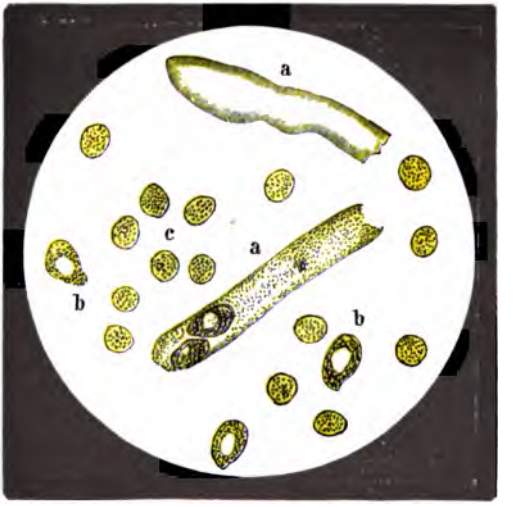
Taf. VIII.

Fig. 46.



Indigokristalle.

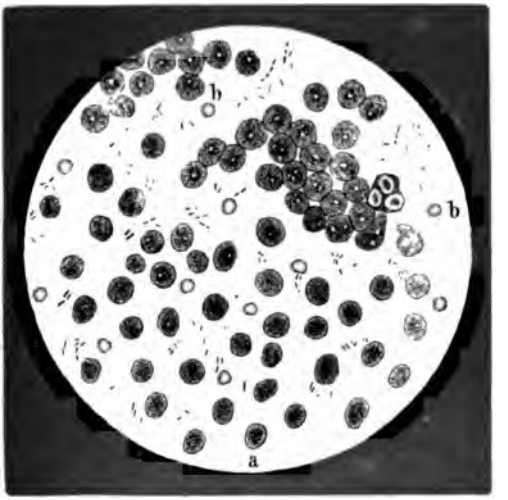
Fig. 49.



a Zylinder aus ikterischem Harn, *b* Nierenepithelien aus ikterischem Harn, *c* Leukocyten aus ikterischem Harn.

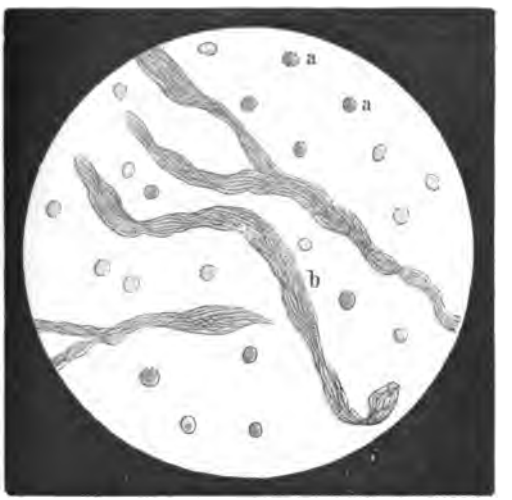
Taf. IX.

Fig. 51.



a Leukocyten (Eiterkörperchen), *b* rote Blutkörperchen.

Fig. 52.



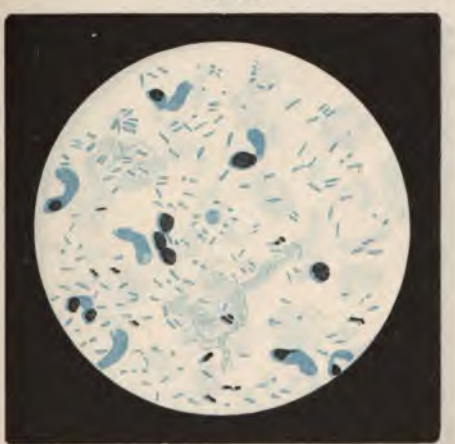
a Rote Blutkörperchen, *b* Fibrinfaserbündel.

Taf. XI.

Fig. 57.

a Echinokokkenhaken, *b* Echinokokkenmembran, *c* rote Blutkörperchen, *d* Leukocyten.

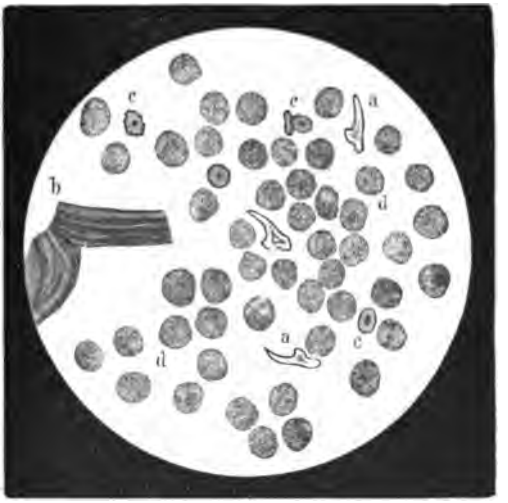
Fig. 59.



Ausstrichpräparat aus Harnsediment bei Bact. coli-Cystitis.

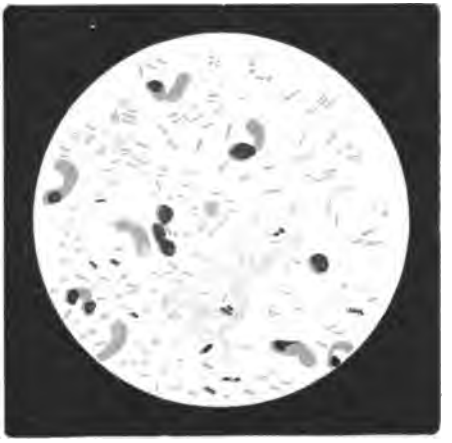
Taf. XI.

Fig. 57.



a **Echinokokkenhaken,** *b* **Echinokokkenmembran,** *c* **rote Blutkörperchen,** *d* **Leukocyten.**

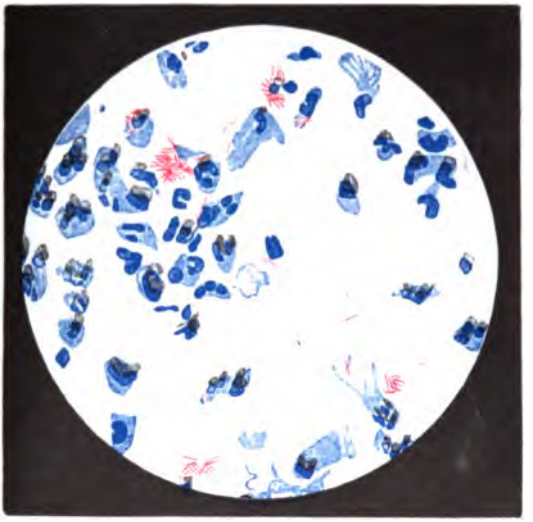
Fig. 59.



Ausstrichpräparat aus Harnsediment bei Bact. coli-Cystitis.

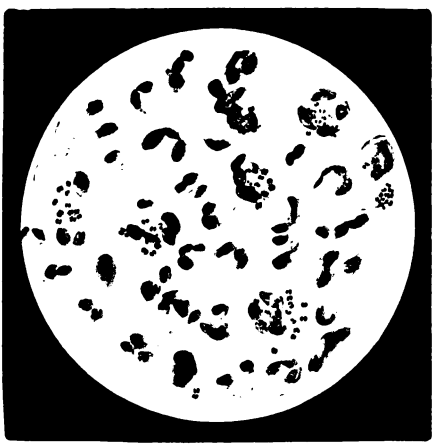
Taf. XII.

Fig. 60.



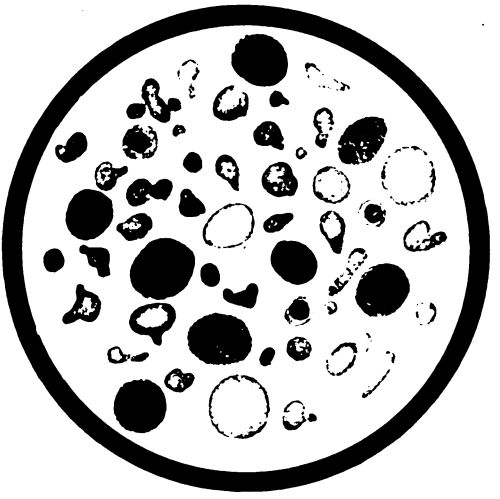
Tuberkelbazillen im Harn bei Blasentuberkulose.

Fig. 61.



Gonokokken im Harnröhrensekret.

Fig. 63.



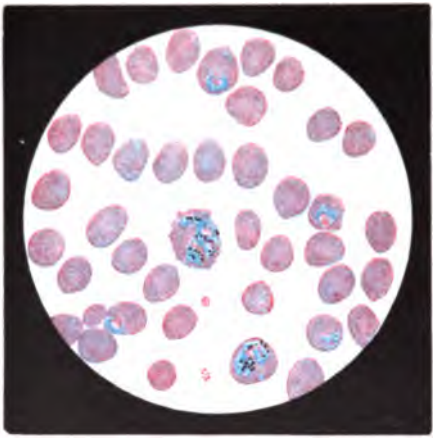
Makrocyten, Mikrocyten, Poikilocyten, Erythroblasten. Dazwischen normale Leukocyten. Färbung: Triacid.

Fig. 64.

Blutpräparat, entnommen kurz vor Beginn eines Anfalls von Tertiana. Teilungsformen. Färbung nach *Manson*.

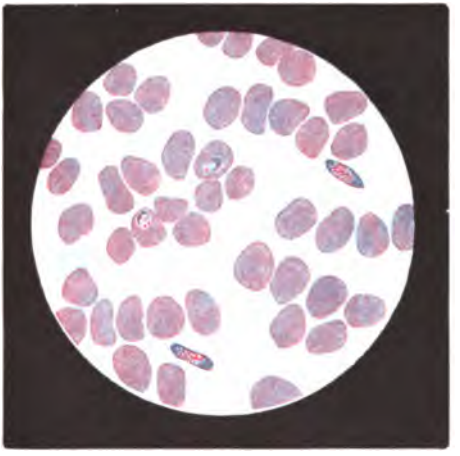
Taf. XIV.

Fig. 65.



Blutpräparat, entnommen auf der Höhe des Fiebers bei Tertiana. Große Ringe und erwachsene pigmentierte Parasiten. Färbung nach *Romanowski*.

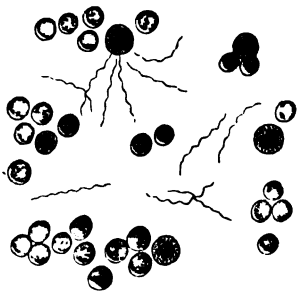
Fig. 66.



Blutpräparat, entnommen bei chronischer Tropikainfektion. Große Ringe. Halbmonde. Färbung nach *Romanowski*.

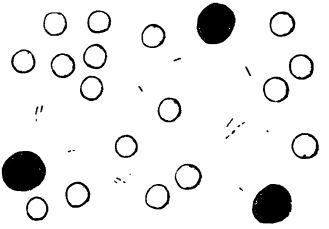
Taf. XV.

Fig. 67.



Rekurrensspirillen.

Fig. 68.



Rotzbazillen im Blute.

Taf. XVI.

Fig. 69.

Milzbrandbazillen aus Kaninchenblut.

Fig. 70.

Tetanusbazillen (Reinkultur).

10% Peptone
10% Phys Salt Sol
Gall

Sterilize 2 hrs in steam

Aldehyde Reaction

Dimethylamidobenzaldehyde

Acid H.Ce

Aquae

Equal

Jena

Sol

Aci

Ag

Sy

HERMANN SCHEIBE, WIEN.
Buch- u. Hof-Buchbinder.